



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Factores de predisposición de hipocalcemia subclínica
(HCS) en ganado lechero de cuatro establos de la
provincia de Lima**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Hiroshi Eduardo FARRO HINOSHITA

ASESOR

Rocío Silvia SANDOVAL MONZÓN

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Farro H. Factores de predisposición de hipocalcemia subclínica (HCS) en ganado lechero de cuatro establos de la provincia de Lima [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Hiroshi Eduardo Farro Hinoshita.
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	76283541
URL de ORCID	-
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Rocío Silvia Sandoval Monzón
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40671201
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-6249-9076
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Fidel Francisco Suarez Aranda
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10833645
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Boris Antonio Lira Mejia
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10131501
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Carlos Alfonso Arana De La Cruz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09312428
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.4.1.7. Medicina y animales mayores
Grupo de investigación	Grupo de investigación en reproducción y sanidad animal - GIRESA
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria. Clínica de Animales Mayores País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.08157 Longitud: -76.987722
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2021 - marzo 2021
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020**

1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 03/12/2021

HORA INICIO: 12:00 horas

HORA TÉRMINO: 13:05 horas

2. MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE: **MV. Dr. Suárez Aranda, Fidel Francisco**

MIEMBRO: **MV. Mg. Lira Mejía, Boris Antonio**

MIEMBRO: **MV. Arana De La Cruz, Carlos Alfonso**

ASESORA **MV. Mg. Sandoval Monzon, Rocío Silvia**

3. DATOS DEL TESISISTA

APELLIDOS Y NOMBRES: **FARRO HINOSHITA, HIROSHI EDUARDO**

CÓDIGO: 14080024

R.R. DE GRADO DE TESISISTA NÚMERO: **N° 009125-2021-R-UNMSM**

TÍTULO DE LA TESIS: **“FACTORES DE PREDISPOSICIÓN DE HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA (HCS) EN GANADO LECHERO DE CUATRO ESTABLOS DE LA PROVINCIA DE LIMA”**

4. RECOMENDACIONES

Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

<https://meet.google.com/weo-hjic-hcc>

ID: weo-hjic-hcc

Grabación archivada en:

https://drive.google.com/file/d/1QJ_zFT5tNon3oMkIlanJvporUZXZQeSDz/view?usp=sharing

NOTA OBTENIDA: 15 (Quince)

5. PÚBLICO ASISTENTE: (Nombre, apellido y DNI)

TESISTA	Hiroshi Farro Hinoshita	-	hiroshi.farro@unmsm.edu.pe
JURADO	Francisco Suárez Aranda	-	fsuareza@unmsm.edu.pe
	Rocío Sandoval Monzon	-	rocio.sandoval@unmsm.edu.pe
	Boris Lira Mejía	-	bliram@unmsm.edu.pe
	Carlos Arana De La Cruz	-	caranadel@unmsm.edu.pe
MODERADOR	Luis Cerro Temoche	41341572	lcerrot@unmsm.edu.pe
COMITÉ DE SUSTENTACIONES	Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
INVITADOS POR EL TESISTA	Takeshi Farro Hinoshita	-	takeshi.farro@gmail.com
SOLICITUD DE ASISTENCIA DOCENTES	Antonio Ampuero Bustillo	06645903	aampuerob@unmsm.edu.pe
	Virginia Rivadeneira	48367422	vrivadeneira@unmsm.edu.pe
	Carla Sofía Meza Taco	72400127	carla.meza1@unmsm.edu.pe
	Sebastian Martin Espinoza	71222547	sebastian.espinoza@unmsm.edu.pe
	José Luis Quichiz Santome	72493870	jose.quichiz1@unmsm.edu.pe
	Leia Alexandra Rosas Cajas	72692513	leia.rosas@unmsm.edu.pe
	Alison Rossmery Cáceres	47586979	alison.caceres@unmsm.edu.pe
	Vanessa Atalaya Ruiz	70852003	vanessa.atalaya@unmsm.edu.pe
	Joel Jefferson Cuenca	48667693	joel.cuenca@unmsm.edu.pe
	Hernan Rodrigo Gonzales	74610046	hernan.gonzales2@unmsm.edu.pe
	Gonzalo Antonio Orihuela	70226350	gonzalo.orihuela@unmsm.edu.pe
	Estefani Milagros Huamaní	46974645	12080008@unmsm.edu.pe
	Milagros Esthefany Fernández	48148285	milagros.fernandez@unmsm.edu.pe
	Andrea Tavera	-	

INGRESARON SIN INSCRIBIRSE	Amilquer Moreno	-	
	Angie Harumi Escobar	-	
	Vicente de La Cruz	-	

INFORMÁTICA	Andrés Trujillo Peña	informatica.fmv@unmsm.edu.pe
--------------------	----------------------	------------------------------

6. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

 <p>Firmado digitalmente por SUAREZ ARANDA Fidel Francisco FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 24.01.2022 23:58:14 -05:00</p>
Firma
MV. Dr. Suárez Aranda, Fidel Francisco
Apellidos y Nombres
PRESIDENTE

Firma 	Firma 	Firma 
MV. Mg. Sandoval Monzon, Rocío Silvia	MV. Mg. Lira Mejía, Boris Antonio	MV. Arana De La Cruz, Carlos Alfonso
Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres
ASESORA DE LA TESIS	MIEMBRO JURADO	MIEMBRO JURADO

DEDICATORIAS

A mis padres por su apoyo incondicional, amor desmedido y consejos desde el inicio en mi vida universitaria.

A mis hermanos Takeshi y Seiki por motivarme con sus palabras y ejemplos de superación.

A mis tíos y primos por su apoyo a la distancia en concretar todas mis metas

A mis amigos que tuve el agrado de conocer a lo largo de la carrera y que aún permanecen a mi lado.

A los docentes y colegas que participaron en mi formación profesional dentro de la nuestra gran institución, la Facultad de Medicina Veterinaria – UNMSM.

AGRADECIMIENTOS

A Rocío Sandoval, por su orientación e importante apoyo en la realización de este trabajo de investigación. Además de su paciencia y amabilidad, sin dejar de ser estricta en su rol como mentora.

A Felipe Ruiz, por su contribución y apoyo en el presente trabajo. Por los conocimientos transmitidos e intercambio de ideas.

A todos los encargados y miembros de los distintos establos que permitieron la recopilación de datos se evaluaron en el presente trabajo.

ÍNDICE

CONTENIDO

DEDICATORIAS.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
I. Introducción	1
II. Revisión Bibliográfica	4
2.1 Fisiología del calcio	4
2.1.1 Homeostasis del calcio	5
2.1.2 Equilibrio ácido-base	9
2.2 Hipocalcemia.....	11
2.2.1 Fisiopatología	11
2.2.2 Hipocalcemia clínica e hipocalcemia subclínica (HCS)	12
2.2.3 Epidemiología de la HCS.....	13
2.2.4 Determinación del punto de corte entre normocalcemia e hipocalcemia	13
2.3 Factores asociados a hipocalcemia clínica y subclínica.....	14
2.3.1 Factores extrínsecos	14
2.3.2 Factores intrínsecos	16
2.4 Pérdidas económicas ocasionadas por la HCS	22

2.5	Aplicación de métodos preventivos y tratamientos compensatorio contra hipocalcemia subclínica en la industria láctea y patologías reproductivas.....	24
2.5.1	Restricción de calcio en la dieta.....	25
2.5.2	Uso de dietas basadas en Diferencia Cación Anión Dietario (DCAD).....	25
2.5.3	Nutrición con vitamina D.....	27
2.5.4	Calcio vía parenteral.....	27
2.5.5	Calcio oral	28
2.6	Importancia de la hipocalcemia subclínica en la salud y producción lechera.	28
III.	Materiales y Métodos.....	30
3.1	Lugar de ejecución y periodo de duración	30
3.2	Recopilación de datos	30
3.3	Metodología empleada en el estudio	31
3.3.1	Criterios de inclusión de datos recopilados de vacas lecheras	31
3.3.2	Criterios de exclusión de datos recopilados de vacas lecheras	31
3.4	Diseño del estudio	31
3.5	Análisis estadístico	34
3.6	Consideraciones éticas.....	35
IV.	Resultados.....	36
V.	Discusión.....	47
VI.	Conclusión.....	53
VII.	Literatura citada.....	54

RESUMEN

El objetivo fue determinar los factores de riesgo asociados a la presentación de hipocalcemia subclínica (HCS) en ganado lechero de la provincia de Lima. Se realizó un estudio transversal empleando 534 registros de vacas monitoreadas entre 2016 y 2017. Se encontró 220 vacas con HCS (41.2%) y 314 vacas normocalcémicas (58.8%). Se realizó la prueba de chi cuadrado y un análisis de regresión logística bivariado a los factores significativos, encontrándose que, vacas con partos asistidos presentaron mayor chance de presentar HCS que aquellas sin asistencia, vacas que parieron en estrés calórico tuvieron mayor chance de tener HCS que cuando parieron en confort térmico, vacas procedentes de los establos 1, 2 y 4 tuvieron menor chance de presentar HCS que las del establo 3, vacas multíparas presentaron mayor chance de presentar HCS que las primíparas, vacas mayores a 3 años tuvieron mayor chance de presentar HCS que las menores de 3 años y aquellas con crías de más de 41.5 Kg PV presentaron mayor chance de presentar HCS que aquellas con crías de peso inferior. Finalmente, se realizó un análisis de regresión logística multivariado con los factores con nivel de significancia inferior a 0.20. Se determinó que las vacas multíparas tienen mayor riesgo de desarrollar HCS que las primíparas (OR ajustado = 2.2; $p < 0.01$). Vacas con partos asistidos tienen mayor riesgo de desarrollar HCS que aquellas sin asistencia (OR ajustado = 2.7; $p < 0.01$). Vacas que paren en época de estrés calórico tienen mayor riesgo de desarrollar HCS que cuando paren en época de confort térmico (OR ajustado = 6.9; $p < 0.001$). Vacas cuya producción es mayor o igual a 15 litros de calostro tienen mayor riesgo de desarrollar HCS que aquellas cuya producción es inferior (OR ajustado = 1.0; $p < 0.05$).

Palabras clave: Hipocalcemia subclínica, vacas lecheras, Lima, factores de riesgo.

ABSTRACT

The objective was to determine the risk factors associated with the presentation of subclinical hypocalcemia (SCH) in dairy cattle in the province of Lima. A cross sectional study with 534 records of cows monitored between 2016 and 2017. We found 220 cows with SCH (41.2%) and 314 normocalcemic cows (58.8%). Chi-square test and bivariate logistic regression analysis were performed to the significant factors, finding that, cows calving with assisted calving had a higher chance of having SCH than those without assistance, cows calving under heat stress had a higher chance of having SCH than when calving in thermal comfort, cows from barns 1, 2 and 4 had a lower chance of having SCH than those from barn 3, multiparous cows had a higher chance of having SCH than primiparous cows, cows older than 3 years had a higher chance of having SCH than those younger than 3 years and those with calves older than 41.5 kg BW were more likely to have SCH than those with calves weighing less than 41.5 kg BW. Finally, a multivariate logistic regression analysis was performed with the factors with a significance level lower than 0.20. It was determined that multiparous cows have a higher risk of developing SCH than primiparous cows (adjusted OR = 2.2; $p < 0.01$). Cows calving with assisted calving have a higher risk of developing SCH than those without assistance (adjusted OR = 2.7; $p < 0.01$). Cows calving during heat stress have a higher risk of developing SCH than when calving during thermal comfort (adjusted OR = 6.9; $p < 0.001$). Cows whose production is greater than or equal to 15 liters of colostrum are at greater risk of developing SCH than those whose production is less (adjusted OR = 1.0; $p < 0.05$).

Key words: Subclinical hypocalcemia, dairy cows, Lima, risk factors

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pag
Cuadro 1.	Lista de factores cuya asociación a la presentación de HCS será evaluada	33
Cuadro 2.	Tabla de contingencia entre los factores extrínsecos (ambientales y de manejo) y la presentación de hipocalcemia subclínica	37
Cuadro 3.	Tabla de contingencia entre los factores intrínsecos (propios de animal) y la presentación de hipocalcemia subclínica	39
Cuadro 4.	Resultados del análisis de regresión logística bivariado para el riesgo de presentación de HCS en vacas según los factores extrínsecos (factores ambientales y de manejo)	41
Cuadro 5.	Resultados del análisis de regresión logística bivariado para el riesgo de presentación de HCS en vacas según la presentación de factores intrínsecos	43
Cuadro 6.	Resultados del análisis de regresión logística multivariado (inicial y final) con intervalo de confianza al 95% para el riesgo de presentación de HCS	45 - 46

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pag
Figura 1.	La liberación de PTH se encuentra regulada por los niveles séricos de calcio. Líneas de color que describen la concentración total de calcio (•) y de la hormona paratiroidea (PTH; ○) en vacas lecheras alrededor del parto. Franja verde son normocalcémicas, franja amarilla son hipocalcémicas subclínicas y la franja roja son hipocalcémicas clínicas.	6
Figura 2.	Regulación de la homeóstasis de calcio en una vaca al inicio de la lactación, cuya etapa productiva es una de las más demandantes de calcio	9
Figura 3.	Cuando las concentraciones de cationes y aniones son equimolares, los $[H^+]$ y $[OH^-]$ son iguales, y el pH tiende a ser 7.	10
Figura 4.	Rol del equilibrio ácido-base en la interacción PTH y sus receptores diana. A) Correcta interacción entre la PTH y receptores localizados en la superficie ósea y renal. B) Insensibilización de receptores debido a la alcalosis sanguínea.	11
Figura 5.	Número de lactaciones como factor de riesgos para la presentación de hipocalcemia. A mayor número de lactaciones, mayor es la probabilidad de presentar hipocalcemia subclínica y clínica. Se utilizaron en total 1462 vacas.	18

I. Introducción

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico - Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (OCDE - FAO, 2021) mencionan que, referente a la industria láctea a nivel mundial, el ganado vacuno aporta 81% de producción, los búfalos el 15%, las cabras, ovejas y camellos un 4% combinadamente; afirmación que el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI) del Perú comparte: la principal especie aportante de leche al mercado nacional es el ganado vacuno (MINAGRI, 2017).

Esto significa que existe una marcada intensificación y comercialización de los sistemas de producción lechera en donde la implicancia más significativa en la economía agropecuaria a nivel nacional e internacional son las enfermedades; esto se debe a la pérdida de recursos y tiempo, los cuales pueden ser escasos en distintos niveles de productividad, siendo las enfermedades infecciosas, parasitarias y productivas las más comunes en el ámbito lechero. (Thirunavukkarasu *et al.*, 2010).

Entre las enfermedades mencionadas podemos acentuar por su relevancia a las enfermedades productivas, las cuales son inducidas por las prácticas de manejo, pero dentro de las mismas hay que destacar a las enfermedades metabólicas, siendo frecuente observarlas en establos de producción intensiva debido a las altas exigencias productivas. (Nir, 2003).

Mulligan y Doherty (2008) mencionan que el origen las enfermedades metabólicas en el ganado lechero es la manifestación de la incapacidad de hacer frente a los altos requerimientos metabólicos para cubrir la producción y que no se encuentran cubiertos por la ingesta de alimentos y nutrientes. Una de las principales enfermedades metabólicas es la hipocalcemia puerperal, también conocida como fiebre de la leche o paresia puerperal; cuya presentación tiene signos característicos que pueden ser evaluados y tratados, pero existe también la presentación sin signos: hipocalcemia subclínica (Goff, 2010).

Neves *et al.* (2018a) nos ofrecen una definición detallada de la hipocalcemia subclínica (HCS): Puede definirse como concentraciones bajas de Ca en la sangre que se asocian (es decir, sin distinción probada en cuanto a causa o consecuencia de otros problemas subyacentes) con trastornos de la salud periparto, resultados de deficientes mecanismos de producción y reproducción, sin signos asociados con paresia posparto.

Respecto a reportes de casos, se cuenta con poca información por lo mismo de que es una enfermedad que no manifiesta signos evidentes pero que indudablemente se va a presentar en cierto porcentaje de la población, como por ejemplo en el trabajo realizado por Sánchez y Saborío-Montero (2014) con 152 animales, quienes reportaron un valor de 56.58% de animales afectados; siendo 6.58% y 50% los porcentajes de hipocalcemia clínica y subclínica, respectivamente.

Beñaldo (2012) y Bzuneh *et al* (2020) mencionan que la HCS tienen un impacto económico directo e indirecto: El principal impacto directo en la economía de los establos será la reducción en la producción de leche de las vacas afectadas, siendo esta la fuente de ingresos de todo centro de producción lechero y, consecuentemente, se va a generar un gasto económico por la compra de medicamentos y suplementos dietéticos, pago de honorarios a veterinarios y sueldo de trabajadores para cuidar y tratar a los animales afectados. Muchas de estas vacas no van a volver a tener el mismo rendimiento anual de leche y pasará a ser sacrificadas o, en caso no sean tratadas, puede que haya pérdidas directas por la muerte de dichos animales. Indirectamente va a ocasionar que los animales afectados van a encontrarse predispuestos a otras enfermedades como metritis, mastitis, retención de placenta y prolapso uterino, las

cuales también van a generar gastos de tratamiento, el descarte de dichos animales o, el peor de los casos, la muerte.

La HCS muchas veces puede pasar de forma inadvertida por la ausencia de signos clínicos, por lo que cobra mucha importancia encontrar factores que predispongan al ganado lechero a la presentación de dicha enfermedad, esto para poder realizar prácticas que busquen prevenir su presentación; la importancia de este trabajo de investigación radica en esto último, buscar factores que predispongan la aparición de HCS en vacas lecheras con gran demanda productiva en sistemas intensivos en la provincia de Lima.

II. Revisión Bibliográfica

2.1 Fisiología del calcio

Las vacas lecheras poseen calcio (Ca) en forma de depósitos dentro de su sistema esquelético, además también poseen Ca en forma extracelular e intracelular. Estos dos últimos se encuentran en diferente proporción, siendo el Ca intracelular 1/10.000 partes la concentración de Ca extracelular, pero ambos se encuentran involucrados en distintas funciones fisiológicas como la mineralización ósea, la coagulación, procesos enzimáticos, señalización celular como segundo mensajero y contractibilidad muscular (Goff, 2010; Wilkens *et al.*, 2020).

Pero el mismo esqueleto también apoya a la homeostasis mineral mediante la acumulación y liberación de calcio, fósforo y magnesio, no dejando de lado su contribución al equilibrio ácido-base (Bushinsky *et al.*, 1985). El sistema esquelético tiene como unidad base a los huesos, que tienen dos tejidos bien diferenciados: tejidos óseos y trabeculares; la porción trabecular aporta Ca intercambiable de manera rápida para evitar alteraciones en la homeostasis del Ca, siendo los huesos ricos en trabéculas los huesos de la columna vertebral, fémures y tibias proximales los que más resulten útiles durante la etapa de lactancia, en comparación con la porción puramente ósea (Kovacs, 2017).

La implicancia del Ca en las funciones endocrinas, musculares e inmunitaria han sido descritas en distintas especies pero en las vacas de producción tienen un rol muy importante para una correcta salud debido a que el calcio se encuentra involucrado en la excitabilidad de las neuronas y células musculares, las cuales ejercen su función a nivel del músculo liso durante la contractibilidad y motilidad en los tractos reproductivos y gastrointestinales, y a nivel del músculo esquelético durante la actividad masticatoria (Hansen *et al.*, 2003; Wilkens *et al.*, 2020).

La actividad inmunitaria y endocrina del Ca actúa en la vía de señalización como segundo mensajero en receptores extracelulares de células inmunitarias y hormonas para la desgranulación, quimiotaxis de especies reactivas de oxígeno y la fagocitosis en neutrófilos, y para nivelar los niveles de insulina en sangre por medio de células beta pancreáticas (Wilkens *et al.*, 2020).

En la última etapa de preñez y durante la lactancia, las glándulas mamarias empiezan un mayor desarrollo para estar en óptimas condiciones para la producción de leche, observándose una mayor expresión y actividad de transportadores, bombas y moduladores de Ca para el movimiento transcelular de Ca desde la sangre hacia la leche (Wilkens *et al.*, 2020)

2.1.1 Homeostasis del calcio

Cuando llega el día del parto, las vacas producen en promedio 10 litros de calostro o más, lo que contiene aproximadamente 23 gramos o más de calcio, siendo equivalente a 6 veces lo contenido en las reservas de calcio extracelular; este desequilibrio homeostático del Ca activará mecanismos regulatorios que permitirán el reemplazo de calcio o, en su defecto, el impedimento de su excreción. Todos los animales van a responder de distinta forma a estos mecanismos regulatorios, lo que desencadenará presentación de hipocalcemia clínica o subclínica (Akalu, 2017).

Goff (2010) mencionan que las concentraciones de calcio sérico abarcan un rango de 8.5 – 10 mg/dl (aproximadamente 2 – 2.5 mmol/l), existiendo receptores sensibles de calcio ubicados en la glándula paratiroidea que pueden detectar una disminución de dicho mineral, lo que desencadenará la liberación de la hormona paratiroidea (PTH) en cuestión de minutos (figura 1) (Kumar y Thompson, 2011).

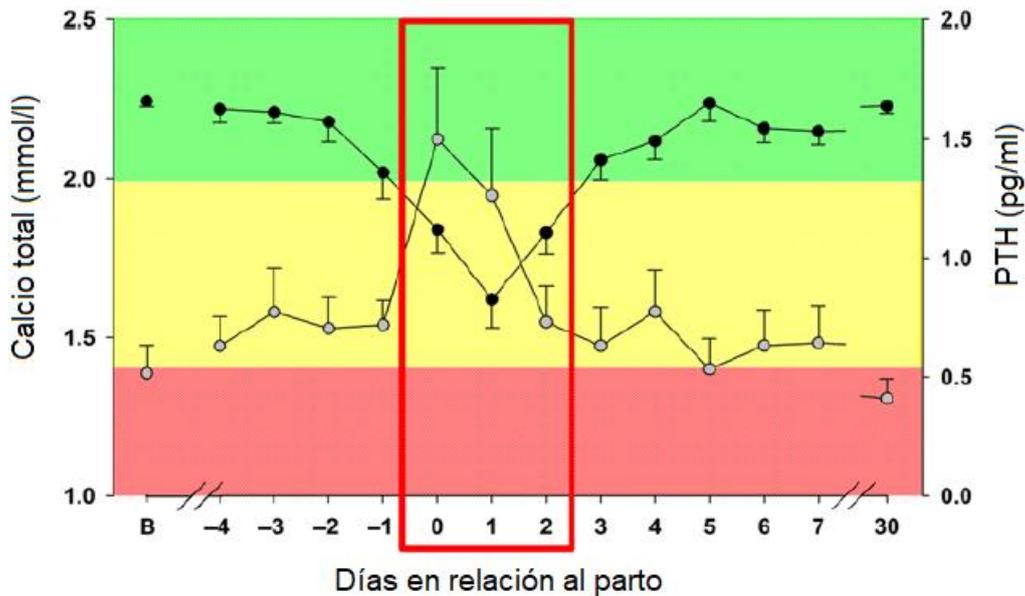


Figura 1. La liberación de PTH se encuentra regulada por los niveles séricos de calcio. Líneas de color que describen la concentración total de calcio (●) y de la hormona paratiroidea (PTH; ○) en vacas lecheras alrededor del parto. Franja verde son normocalcémicas, franja amarilla son hipocalcémicas subclínicas y la franja roja son hipocalcémicas clínicas. Fuente: Hernández-Castellano et al., 2019.

Inicialmente la PTH actuará a nivel renal para aumentar la reabsorción tubular de Ca desde el filtrado glomerular, pero esta vía de excreción y reabsorción es pequeña (<1 – 2 g/día), esto provocará que el calcidiol (25-Hidroxicolecalciferol/ (25 – hidrox – D_3)) se convierta en calcitriol ($1,25(OH)_2D_3$) por medio de la enzima 1α -hidroxilasa a nivel de las mitocondrias de los túbulos proximales (Figura 2) (Besarab y Swanson, 1982; Ben-awadh *et al.*, 2014). El calcitriol aumentará la absorción intestinal de Ca y la PTH, a su vez, activará mecanismos que remuevan el calcio de los huesos para elevar la concentración sérica de calcio (DeGaris, 2008; Salgado *et al.*, 2014). Se pasará a detallar paso a paso los mecanismos homeostáticos.

El calcio ingresará a nivel renal a través del TRPV5 (canales epiteliales de calcio, cuya expresión es predominante en los túbulos contorneados distales y los túbulos conectores del riñón), uniéndose a la calbindina D9k y D28k para su transporte intracelular e ingresará al sistema sanguíneo a través del intercambiador NCX1 y el PMCA1b (Hoenderop *et al.*, 1999, 2005).

La absorción intestinal de Ca se dará de forma activa, esto mediante un transporte transcelular de Ca que involucra tres pasos: 1) Entrada de Ca desde el lumen intestinal a través de canales de calcio TRPV 5 y TRPV 6; 2) transporte intracelular mediado por la proteína de unión de calcio Calbindina D9k; y 3) transporte activo al torrente sanguíneo por la ATPasa de calcio (PMCA1b) (Abel *et al.*, 2003; Bronner, 2003; Horst *et al.*, 2005).

El calcitriol junto con la PTH, por medio de receptores de membrana en los osteoblastos, aumentan la proliferación de osteoclastos que incrementarán la resorción ósea, pero existen otras células que pueden contribuir a la transferencia de calcio hacia la sangre: los osteocitos, por medio de la osteólisis osteocítica (Wysolmerski, 2012).

Los osteocitos se distribuyen a lo largo de la matriz mineralizada encerrados en estructuras llamadas lagunas, estos presentan una extensa red en el hueso que permiten el contacto entre sí y con las células de la superficie ósea (células de revestimiento, osteoclastos y osteoblastos). La estimulación de los osteocitos activará la resorción del mineral perilacunar, lo que aumentará el tamaño de las zonas lacunares (Wysolmerski, 2012). Los minerales (calcio y colágeno) serán degradados por los osteocitos y osteoclastos, liberando marcadores al torrente sanguíneo que se utilizan

como marcadores de liberación de calcio al torrente sanguíneo en distintas especies, entre ellos, rumiantes lecheros (Wilkens *et al.*, 2014; Hernández-Castellano *et al.*, 2019).

La implicancia de los osteocitos en la regulación del calcio sérico también fue estudiada por Hongo *et al* (2020) quienes utilizaron ratones carentes de osteoclastos funcionales a los que se les inyectó PTH y lo observaron lo siguiente. Hubo un aumento significativo de calcio frente al grupo control no inyectado con PTH y que las lagunas osteocíticas se agrandaron solo en el hueso cortical. Este estudio utilizó tinción de Von Kossa y observación por microscopio electrónico de transmisión (TEM), lo cual permitió demostrar que, tras la administración de PTH, la cantidad de matriz perilacunar desmineralizada aumentó gradualmente, ya que los componentes orgánicos degradados como el colágeno se acumularon y ensancharon las lagunas, proceso impulsado por los ácidos secretados por los osteocitos. Este estudio junto con otros (Tazawa *et al.*, 2004; Nango *et al.*, 2016; Wein, 2017) permiten describir a la “osteólisis osteocítica” como un mecanismo que apoya la resorción mineral independientemente de los osteoclastos.

Una vez que los niveles séricos de calcio sobrepasan los niveles fisiológicos normales, el aumento de calcio citoplasmático en las células parafoliculares de la tiroides (células C) empiezan a secretar calcitonina dicha hormona elevará la eliminación renal de Ca, limitará la absorción de calcio intestinal y disminuirá la actividad osteoclástica, permitiendo que una mayor cantidad de Ca sea retenida en los huesos (Garrett *et al.*, 1995; Hoff *et al.*, 2002; Goff, 2010). Cabe agregar que la calcitonina también tiene efecto sobre la osteólisis osteocítica, esto descrito por Clarke *et al* (2015) quienes utilizaron ratones cuyos receptores de calcitonina estaban suprimidos y compararon la actividad osteoclástica al final de la lactancia frente a ratones controles. Los resultados revelaron que la actividad osteoclástica no se vio afectada en ninguno de los grupos de ratones lactantes, pero lo que si encontraron era la presencia elevada de genes relacionados al alza de osteocitos, aproximadamente 3 a 6.5 veces mayor en

el grupo sin receptores de calcitonina en comparación con el grupo control, además de observar que el área lacunar de los osteocitos era mayor en los ratones sin receptores de calcitonina. Esto proporciona pruebas del papel protector de la calcitonina a través de la inhibición de la osteólisis osteocítica.

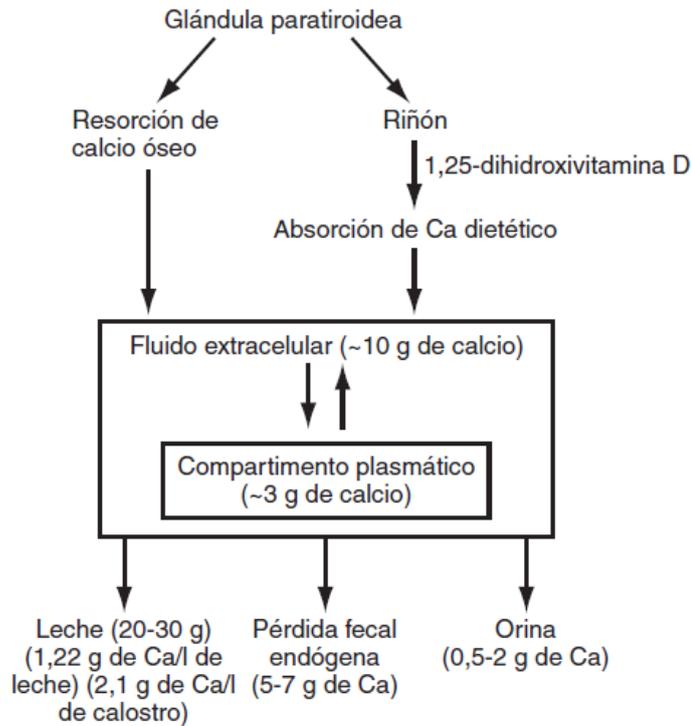


Figura 2. Regulación de la homeostasis de calcio en una vaca al inicio de la lactación, cuya etapa productiva en una de las más demandantes de calcio. Fuente: Goff, 2010.

2.1.2 Equilibrio ácido-base

Según la teoría de Stewart, si a una solución o mezcla, como el plasma, se le adiciona partículas cargadas positivamente, el número de cationes de H^+ debe reducirse y el número de aniones OH^- debe acrecentarse para mantener la electroneutralidad de dicha mezcla, lo que vuelve más alcalina la solución (el pH aumenta); y de forma inversa, la adición de aniones provoca un aumento de H^+ y, por ende, una disminución de OH^- para mantener dicha electroneutralidad, ocasionando que la solución se vuelva más ácida (el pH disminuye) (Goff, 2010).

Los cationes y aniones administrados por medio de dietas traspasan las barreras del tubo digestivo y llegan a la sangre, provocando una modificación en el pH sanguíneo

de acuerdo al número de partículas con cargadas positiva o negativa; los principales cationes presentes en los alimentos son: Sodio (+1), potasio (+1), calcio (+2) y magnesio (+2); y antagónicamente se encuentran el cloro (-1), sulfato (-2) y fosfato (-3), que son los principales aniones presentes en las dietas (figura 3) (Goff, 2010).

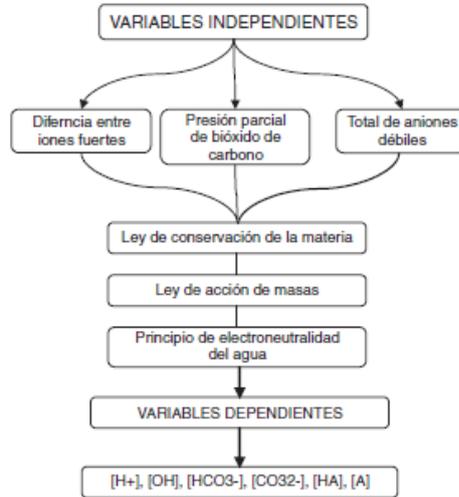


Figura 3. Cuando las concentraciones de cationes y aniones son equimolares, los $[H^+]$ y $[OH^-]$ son iguales, y el pH tiende a ser 7. Fuente: Haubi *et al.*, 2006

El uso de dietas ácido-básicas negativas (aniónicas) en ganado se utilizan para evitar la hipocalcemia consecuente a la alcalosis metabólica, ocasionada por la administración de dietas elevadas en potasio y sodio, que insensibilizan a los receptores de tejidos sensibles a PTH, impidiendo así la resorción osteoclástica, la reabsorción de Ca en el filtrado glomerular y la absorción intestinal del Ca (figura 4) (Goff ,2010).

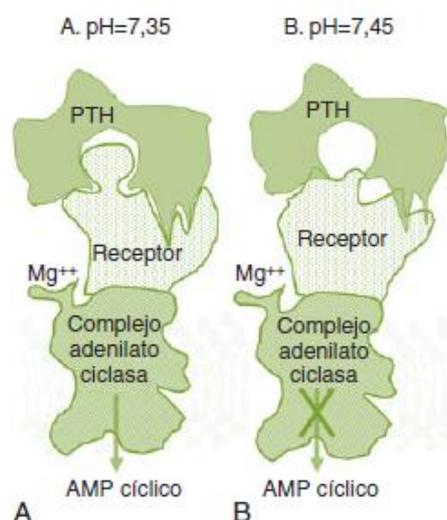


Figura 4. Rol del equilibrio ácido-base en la interacción PTH y sus receptores diana. A) Correcta interacción entre la PTH y receptores localizados en la superficie ósea y renal. B) Insensibilización de receptores debido a la alcalosis sanguínea. Fuente: Goff, 2010

2.2 Hipocalcemia

2.2.1 Fisiopatología

La etapa previa al parto es llamada período de seca, donde al animal se le prepara para la posterior etapa de parto y ordeño. Durante esta etapa, la demanda de Ca por parte de la vaca es mínima y, por ende, la absorción intestinal y resorción ósea del Ca es prácticamente nula; pero todo eso va a cambiar súbita y bruscamente ante la llegada del parto, donde los requerimientos de Ca por parte del calostro y leche van a superar a las reservas que tiene la vaca (Lean *et al.*, 2006)

Esta exacerbada pérdida Ca plasmática provoca hiperexcitabilidad del sistema nervioso y contracciones musculares débiles, siendo observable signos como tetania y paresia (Aiello *et al.*, 2015). Pero el cuerpo activará mecanismos compensatorios por el medio de la resorción ósea y una mejor absorción intestinal de Ca, actuando como mediadores el calcitriol y la PTH (Harris, 1981). Estos mecanismos van a demorar días (en el caso de calcitriol) o semanas (en el caso de la PTH) para poder devolver el

equilibrio homeostático, pero eventualmente la mayoría de los animales van a desarrollar hipocalcemia, sea clínica o subclínica (Bezerra *et al.*, 2014).

La hipocalcemia afectará al tejido muscular por tres medios: 1) Se perderá la estabilidad de las membranas de los nervios periféricos por la falta de Ca, lo que se traducirá en tetania e hiperestesia en un inicio, 2) Luego habrá un fallo en la liberación de acetilcolina en los sitios de unión neuromuscular, causando parálisis, 3) Finalmente, las celulares musculares no podrán realizar su debida contracción, esto siendo muy importante en el musculo cardíaco porque provocará una disminución del volumen sistólico que ocasionará una hipovolemia sistémica, lo que conducirá que haya una hipotermia y depresión del sensorio que podrían provocar la muerte del animal (Erkihun y Lingerih, 2015).

2.2.2 Hipocalcemia clínica e hipocalcemia subclínica (HCS)

La hipocalcemia se puede dividir en clínica y subclínica; en la forma clínica se van a observar signos evidentes como: postración con incapacidad de levantarse, pudiendo estar recostados en decúbito esternal con el cuello extendido hacia afuera creando una curva en forma de S. Si se hace un examen exploratorio, se pueden observar fasciculaciones en algunos grupos musculares como extremidades y cuello. Esta forma se puede diagnosticar indirectamente mediante la respuesta favorable de los animales al tratamiento de calcio endovenoso (Goff, 2010; Beñaldo, 2012; Saborío-Montero *et al.*, 2017).

Estos signos se manifiestan cuando el nivel de Ca sanguíneo es <5 mg/dL, pero la forma subclínica se diferencia por no presentar signos clínicos evidentes en las vacas afectadas y causar susceptibilidad a otra enfermedad, siendo destacable las siguientes consecuencias: 1) Reducción de la contractilidad ruminal y abomasal, que se traduce en una menor ingesta de alimento, 2) Susceptibilidad a presentar metritis, distocias, prolapso uterino, mastitis y retención placentaria, 3) Inmunosupresión. Esta

presentación subclínica ocurrirá cuando el valor de Ca sanguíneo sea <7.5 mg/dl (Mulligan *et al.*, 2006b; Goff, 2010).

2.2.3 Epidemiología de la HCS

La incidencia de hipocalcemia subclínica es poco reportada por la misma razón de no presentar signos clínicos pero distintos autores han hecho algunos reportes. DeGaris y Lean (2008) mencionan que, por medio de una revisión de distintos reportes hechos desde 1977 hasta el 2008, la incidencia de HCS era 3.45%, 6.17% y 3.5% en EE. UU, Europa y Australia respectivamente. Reinhardt *et al* (2010) reportan una incidencia de 5% en EE. UU. Sánchez y Saborío-Montero (2014) reportan un valor de 56,58%; siendo 6,58% y 50% los porcentajes de hipocalcemia clínica y subclínica, respectivamente. Así también, Saborío-Montero *et al* (2017) en un estudio posterior encuentra que la incidencia de hipocalcemia subclínica es de 1.83% en un estudio realizado en Costa Rica. Recientemente, Rodrigues *et al* (2020) hicieron un reporte de incidencia de 34% en un estudio realizado por la Universidad Estatal de Sao Paulo, Brasil.

2.2.4 Determinación del punto de corte entre normocalcemia e hipocalcemia

El establecimiento de un punto de corte en el cual se establezca la medida para diferenciar una vaca normocalcemia e hipocalcemia a nivel sanguíneo es objeto de debate por distintos autores. Oetzel *et al* (1988) empezaron a evaluar niveles séricos de Ca en animales Holstein alimentados con sales aniónicas, señalando como animales hipocalcémicos a los que presentaban niveles de calcio (Ca) séricos por debajo de 4.0 mg/dL el día de parto con o sin signología clásica de paresia puerperal. Los estudios continuaron y empezaron a señalar otros umbrales séricos de Ca, por ejemplo, Aiello *et al* (2015) dictaban como normocalcemia e hipocalcemia a los valores de 8.5 – 10 mg/dL y <7.5 mg/dL, respectivamente. Numerosos autores (Chapinal *et al.*, 2011, Seifi *et al.*, 2011, Chapinal *et al.*, 2012; Martinez *et al.*, 2016) han encontrado que utilizando un valor mayor o igual a 2.0 mmol/L (8.0 mg/dL aproximadamente) como indicativo de

normocalcemia, las vacas evaluadas seguían presentando resultados negativos en salud y producción.

Recientemente una investigación destaca que, tanto el tiempo relativo al parto como el resultado utilizado para identificar la mejor sangre predictiva, dará como resultado que el punto de corte de Ca conduzca a la identificación de diferentes umbrales de Ca en sangre, lo que dificulta establecer un umbral único para HCS (Rodríguez *et al.*, 2017; Neves *et al.*, 2018a).

2.3 Factores asociados a hipocalcemia clínica y subclínica

Los factores de riesgo de hipocalcemia podrían agruparse en factores de riesgo intrínsecos, que están asociados al propio animal, y factores de riesgo extrínsecos, los cuales están fuera del animal y que se conocen también como factores ambientales (Radostits *et al.*, 2000; Khan *et al.*, 2015)

2.3.1 Factores extrínsecos

2.3.1.1 Manejo de establos lecheros

Los efectos causados por el manejo en los centros de producción lecheros suelen llamarse efectos de rebaño, los cuales son muy variables debido a que las estrategias de alimentación y gestión en la etapa de transición son distintas entre cada centro de producción lechero (Chapinal *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 2017; Saborío-Montero *et al.*, 2017).

Dentro de la alimentación del ganado lechero, este puede variar de acuerdo con el sistema utilizado, por ejemplo, es frecuente que la dieta en los sistemas pastoriles sean más alcalinogénicas que los sistemas estabulados, lo que ocasiona una alcalosis

metabólica y consecuentemente dé como resultado un mayor número de animales con HC o HCS (Sánchez y Saborío-Montero, 2014)

También se encuentra la administración de suplementos dietéticos como el uso de calcidiol o 25-hidroxivitamina D; Wilkens *et al* (2012) compararon dietas aniónicas o dietas cuya diferencia catión anión dietario era negativa (DCAD negativas) con o sin calcidiol y encontraron que, aunque la hipocalcemia transitoria en vacas parturientas no pudo evitarse por completo, se pudo demostrar que las vacas suplementadas con calcidiol podrían entrar en el período de lactancia con un mayor contenido de Ca esquelético por una mejor mineralización de su sistema esquelético, lugar donde se lleva la resorción ósea.

2.3.1.2 Longitud de período de seca

Davicco *et al* (1992) mencionaron que los animales expuestos a un período de seca de solo 4 días tuvieron concentraciones de Ca sanguíneo postparto más altas en comparación con animales sometidos a un período de seca de 8 semanas, dando como posible explicación al hecho de que el continuo ordeño tiene un efecto regulador de Ca en las vacas lecheras, sobre todo en animales jóvenes. Adicionalmente, Thilising-Hansen *et al* (2002) comentan que los animales con períodos de seco extensos son propensos a engordar, lo que prolonga el estado de inactividad de la PTH y provoca que estos animales tengan una pobre capacidad para afrontar la hipocalcemia puerperal.

2.3.1.3 Temperatura ambiental

El estrés calórico tiene un impacto en la salud animal al provocar una reducción en el consumo de alimento, alteración del equilibrio ácido-base, induciendo estrés oxidativo e inmunosuprimiendo, lo que resulta en un elevado riesgo de que los animales de producción presenten distintas enfermedades y, en casos extremos, fallezcan (Das *et al.*, 2016). En el ámbito lechero se sabe que las vacas de alta producción y razas sensibles al calor son las más susceptibles, siendo indispensable que los tratamientos

preventivos y chequeos rutinarios vayan dirigidos a estas poblaciones (Kadzere *et al.*, 2002; Berman, 2005).

Khan *et al* (2015), sabiendo el impacto que tiene el estrés calórico en la salud animal, plantearon una posible asociación entre la temperatura ambiental y la presentación de hipocalcemia puerperal. Por lo que realizaron un estudio en la provincia de Jaiber Pastunjuá (Pakistán), abarcando 8 distritos rurales que presentaban distintos tipos de clima (región semiárida, subhúmeda y húmeda) durante las temporadas de invierno, verano, monzón (lluvias torrenciales) y post monzón.

Los resultados encontrados mencionaban que el tipo de clima no tuvo una variación significativa en cuanto a la presentación de hipocalcemia puerperal, pero si ocurrió con las estaciones, siendo la época de verano la que tuvo mayor prevalencia de hipocalcemia seguido de la época de monzón. Algo que llamó la atención es que las variables de altitud, precipitación media anual y temperatura media anual no tuvieron un impacto significativo al abordarlas de manera individual, cosa que si ocurrió al combinarlas.

Finalmente, el estudio determinó que el estrés calórico afecta indirectamente la salud de las vacas frente a la alta demanda de calcio alrededor del parto, los factores como sensibilidad al calor y la alta producción láctea son variables más influyentes que la estacionalidad y que, siendo la hipocalcemia puerperal una enfermedad metabólica, el manejo nutricional podría ser un mejor enfoque para abordar dicha enfermedad.

2.3.2 Factores intrínsecos

2.3.2.1 Número de partos (Paridad) y edad de la vaca

Andresen (2001) menciona que es poco probable observar una vaca primeriza con hipocalcemia subclínica debido a que producen menos calostro, sus huesos poseen un mayor número de osteoclastos, además de contar con un mayor número de receptores intestinales de vitamina D; postulado que también fue descrito por Davicco *et al* (1992) al mencionar que los niveles de Ca se mantenían estables en vacas jóvenes (3 años) debido a eficiente absorción de calcio a nivel del intestino. A medida que la vaca envejece y tiene mayor número de partos, van disminuyendo a la par el número de osteoblastos, la superficie ósea y receptores 1,25-hidroxivitamina D a nivel intestinal,

además de que aumenta la cantidad de leche producida conforme se vuelve aumenta la edad, siendo todo lo anteriormente mencionado contraproducente debido a que aumenta la probabilidad de padecer HCS (Reinhardt *et al.*,1988; Akalu, 2017; Valdecabres *et al.*, 2019).

Reinhardt *et al* (2011) reportaron una prevalencia de hipocalcemia subclínica de 25% en vacas primíparas y 47% en vacas multíparas. Sánchez y Saborío-Montero (2014) informaron que la incidencia de hipocalcemia clínica de vacas de 1, 2, 3, 4, 5 y 6 partos era 6%,13%, 2%, 29%, 29% y 25% respectivamente, esto posiblemente relacionado a la edad del animal.

Saed *et al* (2020) reportaron que la incidencia de HCS aumenta en relación con la edad, donde las vacas mayormente afectadas son animales mayores a 5 años, aunque Jawor *et al* (2012) reconocieron que la HCS puede estar marcada desde los 3 años. Estos mismos animales podrían verse susceptibles debido a la disminución de receptores de Vit. D intestinales, al igual que la reducción en el número de receptores de PTH en los tejidos diana. (Horst *et al.*, 1990, 1996)

El mismo grupo de trabajo de Saed *et al* (2020) registraron que el aumento de número de paridad predispone a las vacas padecer HCS, esto debido al agotamiento de las reservas de Ca, lo cual es predominante entre el tercero a séptimo parto (figura 5) (Roche y Berry., 2006; Reinhardt *et al.*, 2011; Saborío – Montero *et al.*, 2017).

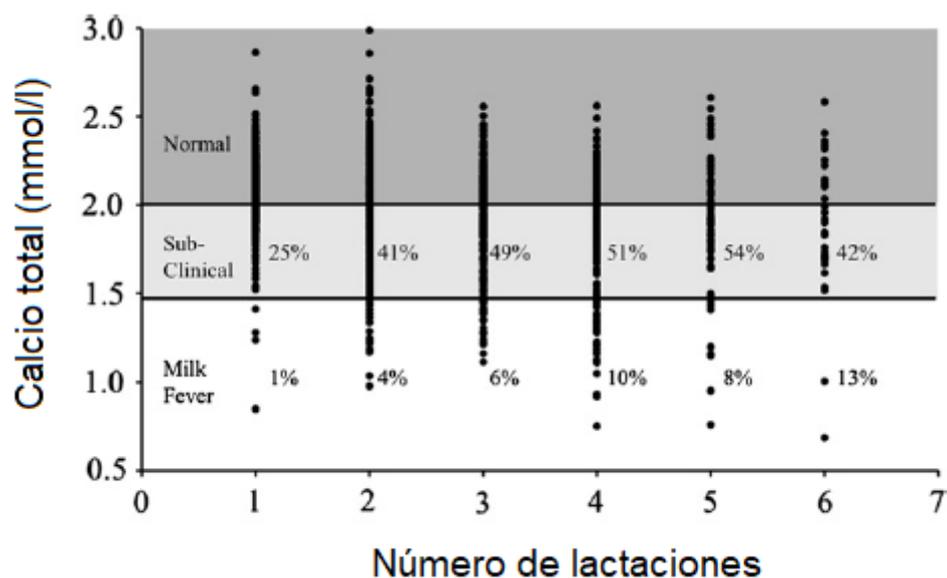


Figura 5. Número de lactaciones como factor de riesgos para la presentación de hipocalcemia. A mayor número de lactaciones, mayor es la probabilidad de presentar hipocalcemia subclínica y clínica. Se utilizaron en total 1462 vacas. Fuente: Reinhardt *et al.*, 2011

2.3.2.2 Raza

La mayoría de los estudios sobre hipocalcemia subclínica han tenido como animales a vacas de raza Holstein puras debido a su mayor volumen de leche producida, por lo que se cuenta con pocos estudios en donde se mencionen a otras razas y razas no puras.

Goff *et al* (1995) y Andresen (2001) mencionan que las vacas Jersey son más susceptibles a padecer HCS debido que su calostro y leche contienen una mayor concentración de Ca, al mismo tiempo que sus receptores 1,25 dihidroxivitamina D intestinales se encuentran reducidos en número lo que ocasiona una menor absorción de calcio. Esto fue corroborado por Bhanugopan y Lievaart (2014) mediante una encuesta realizada en Nuevas Gales del Sur (Australia) que indicó una incidencia de 4% en Holstein, 3.5% en Jersey x Holstein y 8% en Jersey.

Sánchez y Saborío-Montero (2014) en un estudio llevado a cabo reportaron que las razas Jersey y Holstein tienen una concentración de Ca menor a 8 mg/dL luego del segundo parto, pero en el caso de la raza Guernsey esto ocurre luego del tercer parto; dichos estudios de HC en ganado lechero continuaron en una posterior investigación en donde mencionan que las vacas Jersey y cruce Jersey x Holstein, tienen 3.0 y 2.5 veces más probabilidad de desarrollar HC que las vacas Brown Swiss (Sánchez y Saborío - Montero, 2014).

Khan *et al* (2015) reportaron haber encontrado una prevalencia del 4.6% en la provincia de Jaiber Pastunjuá (Pakistán), siendo mayoritariamente afectadas las razas exóticas en comparación con el cebú (raza nativa), posiblemente debido a que el ganado cebú es autóctono de esta provincia y se adecua a las condiciones climática locales, además de que las razas exóticas tienen un mayor rendimiento productivo y esto puede ser un factor de riesgo.

Akalu (2017) realizó un estudio en Adís Abeda (Etiopía) y reportó haber observado una mayor aparición de paresia puerperal en animales Jersey cruzados en comparación con las Holstein cruzados, posiblemente atribuible a la pobre capacidad de las Jersey de regular la homeostasis de Ca por el alto contenido de Ca que se encuentra en su calostro y leche; coincidentemente ese mismo año y en otro país de África (Zimbabue), Chiwome *et al* (2017) se encontraban trabajando con ganado Jersey y Holstein, siendo reportada una incidencia de 14.78% en vacas Jersey en comparación con un 4.82% en vacas Holstein.

Valdecabres *et al* (2019) trabajaron con vacas Jersey x Holstein y Holstein puras y hallaron que las vacas Jersey x Holstein tenían mayor riesgo de padecer de HCS, dando como posible explicación que, al cruzar rasgos de producción lechera de las Jersey con Holstein, existe un mayor rendimiento de calostro y, por ende, un mayor consumo de Ca para dicha producción de calostro.

Rodrigues *et al* (2020) llevaron a cabo un estudio en Sao Paolo (Brasil) con vacas lecheras $\frac{3}{4}$ Holsteins x $\frac{1}{4}$ Gir donde se menciona una incidencia del 34% en dichos

animales, este resultado puede estar relacionado a la moderada producción de leche y la consecuente demanda de Ca para la síntesis de leche en dicho ganado.

2.3.2.3 Producción de leche

Akalu (2017) reportó en su estudio que los animales con una producción diaria de leche mayor a 25 litros tenían mayor riesgo de padecer paresia puerperal, pero Saed *et al* (2020) subrayaban que desde una producción mayor o igual a 20 kg de leche al día ya existe un elevado riesgo, esto debido a que la alta producción de calostro y leche requiere un requerimiento alto de calcio (Liesegang *et al.*, 1999).

Chiwome *et al* (2017), que trabajaron con vacas Jersey y Holstein, manifestaron haber observado una mayor incidencia de hipocalcemia en Jersey (27.07%) que producían más de 6114 litros por 305 que los que producían menos de 6114 litros en 305 días y, paralelamente, también hubo una mayor incidencia en vacas Holstein (10.49%) que producían 9149 litros por 305 días que las Holstein que producían menos de esa cantidad en los mismos 305 días.

2.3.2.4 Sexo de la cría

Valdecabres *et al* (2019) encontraron que el sexo del ternero es un factor de riesgo cuando este es macho, esto debido a los altos requerimientos de Ca para la correcta gestación y mineralización de los esqueletos de terneros machos. La explicación de un mayor requerimiento de nutrientes en machos frente a hembras es debido a que los machos tienen un mayor peso al nacer y, debido a esta característica, es común que los partos de terneros machos presenten dificultades y necesiten ser asistidos por médicos veterinarios.

2.3.2.5 Metritis puerperal, mastitis, retención de placenta

La metritis séptica posparto mostró una tasa de incidencia relativamente alta (26,81%) entre los trastornos investigados a lo largo del período transicional de las vacas hipocalcémicas estudiadas por Saed *et al* (2020), ocurriendo frecuentemente en vacas recién paridas que presentaron retención de placenta.

Además, la incidencia de mastitis clínica fue del 18,99% en las vacas lecheras estudiadas. Esto podría deberse a la pérdida de contracción en el músculo liso del pezón, lo que ocasionará que parcialmente se encuentre abierto y sea una vía de fácil acceso a patógenos ambientales (Saed *et al.*, 2020), además de mencionar que la cetosis clínica afectó a 17,9% de los animales en el mismo estudio.

2.3.2.6 Condición corporal (CC)

Harris (1981) menciona que la asociación de condición corporal e hipocalcemia es un factor de riesgo cuando hay un sobrecondicionamiento, esto debido al alto consumo de alimento y calcio durante la etapa de seca, ocasionando que los niveles de calcio sanguíneo sean elevados y la vaca no se encuentre preparada para la etapa de parto.

Heuer *et al* (1999) reportan que los animales con una CC excesiva tienen 3.3 veces más posibilidad de padecer de hipocalcemia clínica que los animales con una CC moderada.

Saed *et al* (2020) mencionan que las vacas con una puntuación de condición corporal mayor a 3.5 tienen más probabilidad de presentar HCS que las vacas con un BCS menor a 3.5. *Ostergaard et al* (2003) informan que las vacas con sobrecondicionamiento (mayor o igual a 4) al momento del parto tienen 4 veces más probabilidad de presentar hipocalcemia, esto debido a que un mayor CC se asocia a

una mayor producción de leche y una merma en la ingesta de forrajes, todo esto en comparación con animales con condición corporal equilibrada o normal.

2.4 Pérdidas económicas ocasionadas por la HCS

a) Directas

Van a englobar a los costos de tratamiento por animal afectado (crucial en caso de presentarse hipocalcemia clínica), la reducción de ingresos por la disminución de producción láctea y la muerte o sacrificio de animales gravemente afectados por estado clínico de hipocalcemia.

- **Gastos de tratamiento:** Pago de honorarios a médicos veterinarios, mano de obra adicional para el cuidado de las vacas y la compra de suplementos. El gasto promedio de establos lecheros en la India es en promedio \$13.55 por vacas afectada, teniendo una distribución porcentual de 49.2% para la compra de medicamentos, 33.3% para el pago de honorarios a médicos veterinarios y de 17.5% para la compra de suplementos alimenticios (Thirunavukkarasu *et al.*,2010).
-
- **Reducción en la producción láctea:** La rentabilidad de los establos lecheros está prácticamente ligado a los niveles de producción láctea, por lo que una merma en la producción de leche afectará negativamente a los ingresos del establo. Hablando nuevamente de la India, se describió que hubo una pérdida de 36.42 litros de leche por vaca afectada durante el período de la enfermedad, lo que se traduce en aproximadamente \$ 4.74 menos de ingreso (Thirunavukkarasu *et al.*,2010). Bar y Ezra (2005) evaluaron las pérdidas generadas en animales de alta producción, como son las Holstein, y observaron que había una reducción de 200 litros por animal afectado (en casos leves) y de 500 litros (en casos graves), siendo \$54.88 y \$137.19 respectivamente.
-
- **Sacrificio y muerte:** Los animales afectados por HCS no van a recuperar el índice de producción lechera de anteriores campañas, esto genera que los costos de inversión en dichos animales sobrepasen a las ganancias

obtenidas al final de la campaña y el hato proceda a eliminarlas, llegando a sacrificarse aproximadamente el 12% de animales afectados (Hutjens, 2003; Ahmadzadeh *et al*, 2010). Thirunavukkarasu *et al* (2010) durante el período de estudio promediaron que las pérdidas por mortalidad y sacrificio de ganado afectado por la fiebre de la leche fue de aproximadamente \$743.09, considerando vacas afectadas que murieron (02 vacas), terneros muertos de las vacas afectadas (02 terneros) y vacas sacrificadas (04 vacas).

b) Indirectas

La predisposición a otros problemas de salud incorpora gastos adicionales, dichas patologías van a ser predisuestas por la hipocalcemia, como son el desplazamiento de abomaso, la reducción de la fertilidad, mastitis, etc. Se tendrá que contratar mano de obra que implemente tratamientos y cuidados para la resolución de dichas enfermedades (Seifi *et al.*, 2011).

- **Distocias y prolapso uterino:** La hipocalcemia impedirá las contracciones uterinas, ocasionando una distocia durante la labor parto, siendo 6 veces más común en vacas hipocalcémicas que en vacas normales, pero paralelamente también puede perderse el tono muscular del útero y ocasionar un prolapso uterino (Erkihun y Lingerih, 2015).
-
- **Fertilidad:** La hipocalcemia reduce la capacidad del útero de retomar su tamaño luego de parto (involución uterina), lo cual extiende el tiempo para que el cuerpo uterino esté apto para inseminación e implantación de un nuevo embrión (Mulligan *et al.*, 2006a)
-
- **Mastitis:** Las vacas afectadas por hipocalcemia tienen ocho veces más probabilidad de desarrollar mastitis en comparación con vacas sanas, esto se atribuye a que el músculo liso ubicado en el esfínter del pezón se encuentra reducido en función y esto permite un acceso fácil de las bacterias al canal del pezón (Goff, 2004).
-
- **Retención de placenta:** Las vacas afectadas hipocalcémicas van a tener mayor probabilidad de retención placentaria, lo cual puede progresar a una endometritis y, en ambos escenarios, va a disminuir la fertilidad y la productividad de la vaca (Melendez *et al.*, 2002).

2.5 Aplicación de métodos preventivos y tratamientos compensatorio contra hipocalcemia subclínica en la industria láctea y patologías reproductivas

El período de transición es una etapa crítica ya que es una preparación preliminar para afrontar el parto y el inicio de la producción láctea, por lo que es un reto para el animal adaptarse metabólicamente a estos altos requerimientos nutricionales y energéticos de manera casi inmediata (Saed *et al.*, 2020). Sabiendo que pocas vacas lograrán adaptarse metabólicamente, será necesario que los encargados del hato hagan uso de prácticas y estrategias preventivas que eviten la aparición de enfermedades metabólicas como la que estamos evaluando en este trabajo.

A través de una encuesta realizada por Bhanugopan y Lievaart, (2014), la mayoría de los hatos lecheros que experimentaron una baja incidencia de hipocalcemia puerperal contestaron que la incapacidad de pararse fue un signo característico para diagnosticarlo y el tratamiento mayoritariamente aplicado fue una solución de calcio/magnesio aplicado por vía subcutáneo, además de utilizar grano y heno bajos en potasio durante la etapa de seca y un alimento comercial mezclado con calcio suplementado durante las 24 horas posteriores al parto como medidas preventivas. Esto respalda que el uso el correcto diagnóstico, el tratamiento temprano y el uso de distintas practicas preventivas pueden reducir o mitigar la incidencia de hipocalcemia puerperal y sus efectos negativos en los hatos lecheros.

Debido a que el uso de estrategias preventivas la HCS son variadas, tanto en uso como en eficacia, van a ser detallados algunas de estas, pero más allá de seguir ahondando en lo que ya se sabe se deberían buscar nuevos métodos que busquen prevenir la HCS y, de esta manera, frenar el impacto en la salud y producción lechera de las vacas afectadas (Wilkens *et al.*, 2012).

2.5.1 Restricción de calcio en la dieta

Lo que se busca al limitar el consumo de Ca en la dieta es provocar un déficit de Ca sérico que desencadene la secreción de PTH en el preparto, pero lograr este déficit es difícil ya que la dieta debería contener menos de 20g de Ca al día (Andresen, 2001) durante el periodo seco para asegurar los requisitos de mantenimiento de la vaca y los requerimientos para el desarrollo esquelético fetal. Entonces para limitar el consumo de Ca en la dieta se va a requerir que se reemplacen ciertos forrajes con alto contenido de Ca como la alfalfa (12 g de Ca por kg de materia seca) por ensilado de maíz (1.7 g de Ca por kg de materia seca) y/o ensilado de cebada (3.4 g de Ca por kg de materia seca) como ejemplos, no dejando de lado como alternativa al salvado de arroz protegido en el rumen (5.5 g de Ca por kg de materia seca) que fue estudiado por Martín-Tereso *et al* (2016) como insumo en dietas restrictivas de Ca y cuyo reporte menciona que las vacas a las que se les administró 140 g de salvado de arroz protegido en el rumen antes del parto obtuvieron valores séricos más alto de Ca en comparación con las vacas control, siendo los valores de 1.98 y 1.87 mmol/L respectivamente al momento del parto, que gradualmente fueron incrementando hasta las 12 horas postparto (2.15 en comparación con 1.92 mmol/L respectivamente).

Opcionalmente también está el uso de quelantes de Ca, como son el silicato de aluminio y sodio, lo cuales se unen al Ca, P y Mg a nivel del rumen, atrapando dichos minerales y reduciendo la cantidad de Ca absorbido (Thilising *et al.*, 2006). El uso de quelantes ha dado resultados esperados cuando se administró 2 – 3 semanas antes del parto, pero no se observó diferencia en el desempeño productivo posparto (Kerwin *et al.*, 2019), sin dejar de mencionar que el uso de quelantes es una alternativa un poco más costosa frente al intercambio de insumos en la dieta.

2.5.2 Uso de dietas basadas en Diferencia Cation Anión Dietario (DCAD)

El administrar dietas DCAD negativas antes del parto busca inducir una acidosis metabólica para minimizar la hipocalcemia posparto. Este método se conoce e implementa desde hace décadas, pero sigue siendo objeto de estudio. Santos *et al* (2019) investigaron la utilidad de dietas DCAD en vacas multíparas, logrando disminuir

la incidencia de hipocalcemia clínica de 12 a 3%, además de disminuir la presentación de retención de placenta y metritis.

Hablando sobre los efectos beneficiosos, nulos o perjudiciales en la absorción de Ca gastrointestinal hay una discusión ya que hay autores como Roche *et al* (2007) que demostraron que las condiciones acidogénicas aumentan la digestibilidad aparente de Ca; pero también existe opositores que describen efectos nulos o perjudiciales sobre la absorción de Ca gastrointestinal (Oehlschlaeger *et al*, 2014).

Aprovechando la controversia sobre los beneficios o perjuicios causados por las dietas DCAD, se planteó la idea de que uno de los factores era la cantidad de días con la que se administraban las dietas DCAD y se llevó a cabo un estudio por Lopera *et al* (2018) quienes evaluaron cuatro tratamientos: Dos tratamientos cortos de 21 días con dietas DCAD negativas -70 y -180 mEq/kg de materia seca y dos tratamientos largos de 42 días con dietas DCAD negativas -70 y -180 mEq/kg de materia seca. Todos los tratamientos se administraron previos al parto y encontraron lo siguiente: En todos los casos los animales disminuyeron su consumo de materia seca, los animales sometidos a una dieta más negativa (-180 mEq/kg) tuvieron una concentración mayor de Ca ionizado en sangre previo y el día del parto, pero se observó que los animales que fueron sometidos a 42 días de tratamiento tuvieron una reducción en la producción de leche y aumentaron los días abierto debido al bajo porcentaje de preñez por inseminación artificial. Se puede deducir que va a haber efectos positivos cuando se utilice las dietas DCAD negativas, pero empezaran a haber efectos contraproducentes cuando se extienda su uso en el total de días previos al parto.

Finalmente, también se planea que las DCAD negativa eleva la respuesta de los tejidos al estímulo de la PTH. Vieira-Neto *et al* (2021) alimentaron con raciones DCAD negativas y positivas a vacas Holstein, 3 días después de consumo de dichas raciones se aplicó vía intravenosa PTH durante 48 horas, dando como resultados que las concentraciones séricas de Ca de las vacas con raciones DCAD negativas eran mayor que las vacas con ración DCAD positiva. Se cree que la disminución de pH provoca una sensibilidad de los receptos de PTH en los tejidos involucrados en la homeostasis del Ca.

2.5.3 Nutrición con vitamina D

Desde el descubrimiento de que la vitamina D era necesaria para la homeostasis del Ca, se empezó a utilizar como método preventivo y de tratamiento contra la hipocalcemia. Desde de 1946 hasta la actualidad aún no se llega a un consenso de la cantidad de vitamina D que se debe suplementar, pero Andresen (2001) recomienda la suplementación para vacas de razas grandes preparto (680 kg de peso) de aproximadamente 25,000 UI de Vit D3 al día. Los rangos que se utilizan en hatos lecheros varían de 30,000 – 50,000 UI de Vit/d, contrastándose con una concentración sérica de 60 – 80 ng/ml. Lo que observó Vieira-Neto *et al* (2017) es que las vacas postparto tenían 5 – 10 ng/ml menos que las vacas en lactancia tardía y seca pero que estos valores aún eran preventivos de hipocalcemia clínica.

Pero también hay hatos que llegan a suplementar hasta el triple de lo recomendando por la CNI, por lo que Poindexter *et al* (2020) indicaron que había poco o ningún beneficio el suplementar por encima de 60,000 UI/d de Vit. D3, debido a que las vacas tienen una capacidad limitada de convertirla.

2.5.4 Calcio vía parenteral

Comercialmente se utiliza un inyectable que contiene gluconato de Ca al 23% (presentación de 500 ml). Se suele utilizar la vía subcutánea para elevar la concentración de Ca sérico luego de parto que contrastan con resultados desalentadores (Melendez *et al.*, 2002) atribuidos posiblemente a la evaluación muy tardía de la sangre (2, 3, 6 9 y 12 días posteriores al parto). Pero se han hecho nuevos estudios, Blanc *et al* (2014) denotan que existe una elevación de los niveles de Ca sérico una hora después de la administración intravenosa, pero también parece haber un efecto de rebote 24 horas después de la administración de Ca intravenoso, esto posiblemente a que el aumento rápido de la concentración de Ca en sangre bloquea la secreción de PTH e impide una regulación de Ca hasta que empiece a disminuir por debajo del umbral.

2.5.5 Calcio oral

Existen presentaciones comerciales como sales de Ca de rápida absorción que son altamente biodisponibles, pero sumamente irritantes para membranas mucosas orales, faríngeas y esofágicas; y también sales de Ca de lenta absorción, de prolongada acción pero que pueden ser ineficaces por como fuente inmediata de Ca pero, el objetivo de administrar Ca oral es que el animal disponga de Ca por un período prolongado que dé como resultando un aumento progresivo y longevo de Ca sérico en comparación con productos inyectables (Leno *et al.*, 2018; Valdecabres *et al.*, 2018).

2.6 Importancia de la hipocalcemia subclínica en la salud y producción lechera.

El período transicional ocupa tres etapas (la preparto, parto y post parto), en cuyo lapso ocurren cambios fisiológicos importante y demandantes que generan desequilibrios en los mecanismos regulatorios y dando origen a la presentación de patologías metabólicas (Beñaldo, 2012). La hipocalcemia clínica o paresia puerperal afecta a menos del 5% de animales y no tiene el nivel de impacto en el rebaño para provocar grandes pérdidas en materia de producción y enfermedad (Wilkens *et al.*, 2020); pero la hipocalcemia subclínica tiene un grave impacto en la salud de las vacas lecheras, las cuales pueden verse afectadas hasta el 50% (Reinhardt *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2012; Sánchez y Saborío-Montero, 2014).

Las vacas con HCS están predispuestas a un mayor riesgo de enfermedades, teniendo 3 a 5 veces más probabilidad de desarrollar retención de placenta, cetosis subclínica, desplazamiento de abomaso, metritis y endometritis subclínica, reducción de consumo de materia seca, disminución de la probabilidad de preñar en la primera inseminación artificial y 50% más de probabilidad de ser sacrificadas que las vacas normocalcémicas (Chapinal *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2017; Venjakob *et al.*, 2018; Valdecabres *et al.*, 2019).

Debido a discrepancia entre autores sobre el daño ocasionado por HCS en la producción lechera, Caixeta *et al* (2017) evaluaron la persistencia de HCS en los valores de producción lechera y encontraron que animales con niveles de Ca menores o iguales a 2.15 mmol/L en los primeros tres días, tenían 70% menos probabilidad de preñar al primer servicio de inseminación en comparación con vacas normocalcémicas; esto abre la pregunta de que la persistencia de la HCS puede ser lo perjudicial y no la concentración absoluta de Ca en un solo día. Para eso Neves *et al* (2017 a,b) compararon vacas HCS con valores hipocalcémicos de un día y de 2 – 3 días, encontrando que las vacas con valores hipocalcémicos de un día eran menos propensas a desarrollar enfermedades postparto y tenían una producción mayor que las vacas con valores hipocalcémicos de 2 - 3 días de persistencia.

Hablando de pérdidas económicas, podemos detallar que la hipocalcemia clínica genera gastos de aproximadamente \$ 334 y \$ 343 en Estados Unidos y Reino Unido, respectivamente, por vaca afectada (Saborío-Montero *et al.*, 2017).

Se puede concluir que la reducción en la producción de leche, sacrificio o muerte del animal y el pago de honorarios junto con el tratamiento para los animales afectado son un grave golpe a la economía de productores lecheros pequeños y grandes (Thirunavukkarasu *et al.*, 2010)

III. Materiales y Métodos

3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración

El análisis de la información se realizó en la Clínica de Animales Mayores de la UNMSM, durante los meses de enero a marzo del 2021.

3.2 Recopilación de datos

Se emplearon los registros de 534 vacas lecheras provenientes de cuatro establos de la provincia de Lima, en los cuales se determinó la presencia de vacas con hipocalcemia subclínica determinada al séptimo día post parto mediante espectrofotometría. Estos datos corresponden a los registros obtenidos entre marzo 2016 y marzo 2017.

Se intentó recopilar la siguiente información de los establos estudiados:

- Paridad
- Edad de parto
- Número de crías
- Sexo de la cría
- Peso de la cría
- Raza
- Producción de calostro

- Periodo de seca
- Asistencia al parto
- Condición corporal preparto
- Estación de parto
- Establo
- Eliminación de placenta
- Presencia de metritis puerperal
- Balance energético negativo postparto

3.3 Metodología empleada en el estudio

3.3.1 Criterios de inclusión de datos recopilados de vacas lecheras

Vacas recién paridas sanas clínicamente, que hayan tenido al menos un parto, vacas nacidas dentro de establos de crianza intensiva que estos se encuentren en la provincia de Lima, criadas mediante una alimentadas con forraje y concentrado, ordeñadas mecánicamente e inseminadas artificialmente.

3.3.2 Criterios de exclusión de datos recopilados de vacas lecheras

Se excluyeron a las vacas con presentación de hipocalcemia clínica, que hayan sido adquiridas en otra provincia o que no cuenten con historial productivo y clínico o que hayan presentado una enfermedad grave como retículo peritonitis traumática, desplazamiento de abomaso.

3.4 Diseño del estudio

Se realizó un diseño observacional transversal, donde se identificaron las vacas que presentaron valores de calcio inferiores a 7.44 mg/dL (hipocalcemia subclínica), y

las vacas que presentaron valores de calcio superiores o iguales a 7.44 mg/dL (normocalcemia). Se encontró 220 casos de HCS y 314 vacas normocalcémicas.

Se evaluaron los factores intrínsecos y extrínsecos presentes en ambos grupos. Los factores intrínsecos fueron las características inherentes y propias del animal, que no pueden ser modificados por agentes externos, tales como su *paridad* (considerándose primípara a la vaca de un parto y multípara a la vaca de 2 a más partos), *edad de parto* (esta variable considerará los siguientes grupos según la edad al momento del parto: menores de 3 años, de 3 a 6 años y mayores de 6 años), *número de crías* (considerándose como cría única al parto exitoso con una sola cría y gemelar al parto exitoso con dos crías), *sexo de la cría* (considerándose las variables macho, hembra y gemelar), *peso de la cría* (considerándose las variables menor o igual a 41.5 kg y mayor a 41.5 kg), *producción de calostro* (considerará las variables menos de 15 litros y mayor o igual a 15 litros).

Los factores extrínsecos fueron características moldeables por agentes externos como el hombre y el medio ambiente, tales como *periodo de seca* (se considerarán los siguientes grupos: menos de 76 días y más de 76 días), *asistencia al parto* (sin asistencia en caso no se haya requerido la ayuda durante el parto o con asistencia en caso se haya requerido la ayuda durante el parto), *condición corporal (CC) preparto* (se considerarán los siguientes grupos basados en puntaje de condición corporal: menor o igual de 3, 3.25, 2.5 y mayor o igual a 3.75), *estación de parto* (considerándose las variables de confort como los partos ocurridos entre julio a octubre y estrés calórico a los partos ocurridos entre noviembre a junio), *establo* (se considerarán los siguientes grupos enumerados: 1, 2, 3 y 4), *eliminación de placenta* (se considera placenta retenida a la falla en la expulsión de la placenta y resto de membranas fetales posterior a 12 horas de ocurrido el parto, de lo contrario se considerará como placenta eliminada) *presencia de metritis puerperal* (se considera con metritis cuando el animal presenta fiebre, depresión, loquios de coloración marrón y olor fétido dentro de los primeros 15 días post parto, de lo contrario se considerará vaca sin metritis), *balance energético negativo (BEN) postparto* (se considerará "leve" cuando la vaca pierda menos de 1 punto de condición corporal luego del parto y "severo" cuando la vaca pierda lo que se consideraría mayor o igual a 1 punto de condición corporal).

El uso de más de una raza dentro del estudio se sustentó tomando como referencia el IV Censo Nacional Agropecuario (INEI, 2012), siendo las razas Holstein (80,426), Brown Swiss (23,279) y Gyr/Cebú (6,327) las de mayor distribución en el departamento de Lima, siendo imposible excluir aquellas otras razas que no sean Holstein debido su elevada presencia en el departamento de Lima.

Para el peso de la cría se utilizó un peso promedio de las dos principales razas distribuidas en Lima, Holstein y Brown Swiss. El estudio de Bueno (2013) menciona que el peso promedio de crías Brown Swiss es 41.76 para hembras y 41.98 para machos, y el peso promedio de las crías Holstein es 42.73 para las hembras y 41.33 para los machos. Adicionalmente describe a las crías de ambas razas como de gran tamaño y peso similar. Con estos resultados se estableció el peso promedio de 41.5 kg PV.

Cuadro 1. Lista de factores cuya asociación a la presentación de HCS será evaluada

Factores estudiados	Fact. extrínsecos	Fact. intrínsecos
Paridad (PR)		X
Edad de parto (EDP)		X
Núm. De crías (NC)		X
Sexo de cría (SC)		X
Peso de cría (PC)		X
Razas (RZ)		X
Producción de calostro (PCT)		X
Periodo de seca (PS)	X	
Asistencia al parto (AP)	X	
CC parto (CCP)	X	
Estación de parto (EP)	X	
Establo (E)	X	
Eliminación de placenta (EPL)	X	
Presencia metritis puerperal (MP)	X	
BEN postparto (BPP)	X	

3.5 Análisis estadístico

La frecuencia de la hipocalcemia subclínica será reportada como porcentaje, y se calculará el intervalo de confianza al 95%. La variable de respuesta fue binomial (hipocalcemia subclínica o normocalcemia). Los factores intrínsecos: Paridad (primíparas y multíparas), edad de parto (menor de 3 años, de 3 a 6 años, 6 años), número de crías (único o gemelar), sexo de la cría (macho, hembra y gemelar), peso de cría (menor o igual a 41.5 kg y mayor a 41.5 kg), raza (Holstein y otros) y producción de calostro (menos de 15 litros y mayor o igual a 15 litros).

Mientras que los factores extrínsecos serán: Periodo de seca (menos de 76 días y más de 76 días), asistencia al parto (sin asistencia, con asistencia), CC preparto (≤ 3 , 3.25, 3.5 y ≥ 3.75), estación de parto (confort y estrés calórico), establo (1, 2, 3 y 4), eliminación de placenta (placenta eliminada, placenta retenida), presencia de metritis puerperal (sin metritis, con metritis), BEN postparto (leve y severo).

Primero se realizó la prueba de independencia de chi cuadrado para determinar la asociación de los factores intrínsecos y extrínsecos con la presentación de HCS. Luego, se realizó un análisis de regresión logística bivariado para determinar la magnitud de la asociación entre los factores intrínsecos y extrínsecos (variables independientes) y la presencia de HCS (variable dependiente) mediante el odds ratio crudo. En cada variable, la categoría de referencia tendrá un odds ratio igual a uno (OR = 1). Un odds ratio mayor a uno (OR > 1) indica que la probabilidad de presentar hipocalcemia subclínica se ha incrementado a comparación con las vacas de la categoría referente.

Finalmente, se realizó un análisis de regresión logística multivariado para el riesgo de presentación de HCS. Se incluyeron en el análisis los factores intrínsecos y extrínsecos que contaban con datos completos (sin datos perdidos), siendo incluidos en el análisis los factores de: paridad, edad de parto, asistencia al parto, número de crías, sexo de la cría, estación de parto, establo, raza, eliminación de placenta, presencia de metritis puerperal, producción de calostro. Se empleó el método de selección de

variables de eliminación hacia atrás en la regresión logística inicial. Se descartaron las variables no significativas con un nivel de significancia por encima del 0.20.

3.6 Consideraciones éticas

Este estudio no se trabajó con animales, únicamente se utilizó los registros de los distintos establos y la información fue evaluada en la clínica de animales mayores de la FMV - UNMSM para su posterior análisis.

IV. Resultados

La frecuencia de hipocalcemia subclínica encontrada en los establos fue de 41.19% (220 casos de HCS de un total de 534 registros), con un intervalo de confianza que va de 36.92% a 45.24%. En el cuadro 2 podemos observar la frecuencia de presentación de HCS según los factores extrínsecos (ambientales y de manejo). Se encontró que los factores extrínsecos que presentaron asociación significativa fueron asistencia al parto, estación de parto y establo. De acuerdo con el factor asistencia al parto, el 39.5% de vacas con partos sin asistencia presentan HCS frente a un 54.2% de vacas cuyos partos fueron asistidos, esto con un nivel de asociación estadísticamente significativo ($p < 0.05$). El factor estación de parto describe que el 18.3% de vacas cuyos partos ocurrieron en época de confort térmico presentan HCS frente a un 52.8% de vacas que parieron en época de estrés, contando con un nivel de asociación estadísticamente altamente significativo ($p \leq 0.001$). Sobre el factor establo se aprecia que el porcentaje de presentación de HCS es de 34.4%, 29.3%, 57.7% y 18.8% respectivamente de los establos enumerados del 1 al 4, contando con un nivel de asociación estadísticamente altamente significativo ($p \leq 0.001$).

Cuadro 2. Tabla de contingencia entre los factores extrínsecos (ambientales y de manejo) y la presentación de hipocalcemia subclínica

Fact. extrínsecos	Categoría	Total (N)	HCS (nh)	Frecuencia relativa	Intervalo de confianza (IC) 95%		p
					Mín.	Máx.	
Periodo de Seca	<i>≤ 76 días</i>	92	29	31.5%	22.0%	41.0%	0.168
	<i>> 76 días</i>	41	18	43.9%	28.7%	59.1%	
Asistencia al parto	<i>Sin asistencia</i>	435	172	39.5%	35.0%	44.2%	0.013
	<i>Con asistencia</i>	83	45	54.2%	43.5%	64.6%	
CC Preparto	<i>CC ≤3</i>	65	25	38.5%	26.6%	50.3%	0.253
	<i>CC 3.25</i>	58	13	22.4%	11.7%	33.1%	
	<i>CC 3.5</i>	95	33	34.7%	25.2%	44.3%	
	<i>CC ≥ 3.75</i>	56	17	30.4%	18.3%	42.4%	
Estación Parto	<i>Confort térmico</i>	180	33	18.3%	12.7%	24.0%	< 0.001
	<i>Estrés calórico</i>	354	187	52.8%	47.6%	58.0%	
Establo	<i>1</i>	189	65	34.4%	27.9%	41.4%	< 0.001
	<i>2</i>	133	39	29.3%	22.1%	37.4%	
	<i>3</i>	196	113	57.7%	50.7%	64.4%	
	<i>4</i>	16	3	18.8%	5.6%	42.1%	
Eliminación de Placenta	<i>Placenta eliminada</i>	418	170	40.7%	36.0%	45.4%	0.345
	<i>Placenta retenida</i>	73	34	46.6%	35.5%	58.0%	
Presencia de Metritis Puerperal	<i>Sin metritis</i>	357	140	39.2%	34.3%	44.4%	0.073
	<i>Con metritis</i>	135	65	48.1%	39.8%	56.5%	
BEN Postparto	<i>Leve</i>	165	45	27.3%	20.9%	24.4%	0.374
	<i>Severo</i>	44	15	34.1%	21.4%	48.8%	

N: número animales evaluados dentro de cada categoría de cada factor, nh: número animales con HCS dentro de cada categoría de cada factor; p: nivel de significancia (Prueba de independencia de chi cuadrado)

En el cuadro 3, podemos observar la frecuencia de presentación de HCS según los factores intrínsecos (propios del animal). Los factores intrínsecos que presentaron asociación significativa fueron la paridad, edad al parto, y peso de cría. En el factor de paridad se aprecia que el 30.5% de las vacas primíparas presentan HCS frente a un 46.2% de vacas multíparas, teniendo un nivel de asociación estadísticamente altamente significativo ($p = 0.001$). En relación con el factor edad de parto, animales con menos de 3 años, de 3 a 6 años y los mayores a 6 años tienen tasas de presentación de HCS de 32.6%, 46.2% y 51.9% respectivamente, con un nivel de asociación altamente significativo ($p < 0.01$). Respecto al peso de cría al nacimiento se observa que las vacas cuyas crías nacieron con un peso ≤ 41.5 kg PV tuvieron una tasa de 31.7% de presentación de HCS frente a un 44% de vacas con crías cuyo peso fue > 41.5 kg PV al nacimiento, con un nivel de asociación estadísticamente significativo ($p < 0.05$).

Cuadro 3. Tabla de contingencia entre los factores intrínsecos (propios de animal) y la presentación de hipocalcemia subclínica

Factores intrínsecos	Categoría	Total (n)	HCS (nh)	Frecuencia relativa	IC 95%		p
					Mínimo	Máximo	
Paridad	<i>Primípara</i>	167	51	30.5%	23.9%	37.8%	0.001
	<i>Múltipara</i>	366	169	46.2%	41.1%	51.3%	
Edad de parto	<i>< 3 años</i>	218	71	32.6%	26.6%	39.0%	0.003
	<i>3 a 6 años</i>	262	121	46.2%	40.1%	52.2%	
	<i>> 6 años</i>	54	28	51.9%	38.5%	65.2%	
Núm. de crías	<i>Único</i>	484	202	41.7%	37.4%	46.2%	0.786
	<i>Gemelar</i>	34	15	44.1%	28.5%	60.7%	
Sexo de cría	<i>Hembra</i>	259	98	37.8%	32.1%	43.9%	0.178
	<i>Macho</i>	212	98	46.2%	39.6%	53.0%	
	<i>Gemelar</i>	34	15	44.1%	28.5%	60.7%	
Peso de cría	<i>≤ 41.5 kg PV</i>	161	51	31.7%	24.5%	38.9%	0.036
	<i>> 41.5 kg PV</i>	116	51	44.0%	34.9%	53.0%	
Raza	<i>Holstein</i>	477	190	39.8%	35.5%	44.3%	0.122
	<i>Otras</i>	38	20	52.6%	37.1%	67.8%	
Prod. de calostro	<i>< 15 litros</i>	241	93	38.6%	32.6%	44.8%	0.220
	<i>≥ 15 litros</i>	231	102	44.2%	37.9%	50.6%	

N: número animales evaluados dentro de cada categoría de cada factor, nh: número animales con HCS dentro de cada categoría de cada factor; p: nivel de significancia (Prueba de independencia de chi cuadrado)

Luego en el cuadro de resultados 4 y 5 se puede observar un análisis de regresión logística bivariado para el riesgo de presentación de hipocalcemia subclínica en vacas lecheras de producción intensiva según factores extrínsecos e intrínsecos.

En el cuadro 4 se puede resaltar que los factores extrínsecos que afectan significativamente el chance de presentar hipocalcemia subclínica son: asistencia al parto, estación de parto y establo. En relación con la asistencia al parto, las vacas que presentan partos asistidos tienen 1.8 veces más chance de presentar HCS en comparación con quienes tienen un parto sin asistencia (IC al 95%; 1.12 a 2.90; $p < 0.05$). Las vacas que paren en estación de estrés calórico tienen 5 veces más chance de presentar HCS en comparación con las vacas que paren en estación de confort térmico (IC al 95%; 3.24 a 7.67; $p < 0.001$). Finalmente, las vacas provenientes de los establos 1, 2 y 4 tienen 0.39, 0.31 y 0.17 veces menor chance de presentar HCS en comparación con las vacas del establo 3 (IC al 95%; 0.25 a 0.58, 0.19 a 0.49 y 0.05 a 0.61; $p < 0.05$).

Cuadro 4. Resultados del análisis de regresión logística bivariado para el riesgo de presentación de HCS en vacas según los factores extrínsecos (factores ambientales y de manejo)

Factores extrínsecos	Categoría	Regresión logística bivariado			
		OR (Crudo)	IC 95%		p
			Mínimo	Máximo	
Periodo de seca	<i>≤ 76 días</i>	1.000			
	<i>> 76 días</i>	1.700	0.79	3.62	0.170
Asistencia al parto	<i>Sin asistencia</i>	1.000			
	<i>Con asistencia</i>	1.811	1.12	2.90	0.014
CC Preparto	<i>CC ≤ 3</i>	2.163	0.97	4.78	0.057
	<i>CC 3.25</i>	1.000			
	<i>CC 3.5</i>	1.842	0.87	3.89	0.109
	<i>CC ≥ 3.75</i>	1.509	0.65	3.49	0.337
Estación de parto	<i>Confort térmico</i>	1.000			
	<i>Estrés calórico</i>	4.988	3.24	7.67	<0.001
Establo	<i>1</i>	0.385	0.25	0.58	<0.001
	<i>2</i>	0.305	0.19	0.49	<0.001
	<i>3</i>	1.000			
	<i>4</i>	0.170	0.05	0.61	0.007
Eliminación de Placenta	<i>Placenta eliminada</i>	1.000			
	<i>Placenta retenida</i>	1.272	0.77	2.09	0.346
Presencia de Metritis Puerperal	<i>Sin Metritis</i>	1.000			
	<i>Con Metritis</i>	1.439	0.96	2.14	0.074
BEN Postparto	<i>Leve</i>	1.000			
	<i>Severo</i>	1.379	0.67	2.80	0.376

OR: Odds Ratio, p: nivel de significancia (prueba de regresión logística bivariado)

En el cuadro 5 se observan los resultados de los factores intrínsecos y se puede notar que la paridad, la edad al parto y el peso de la cría afectan el chance de presentación de HCS. Observamos que las vacas multíparas presentan 1.9 veces mayor chance de presentar HCS en comparación con las vacas primíparas (IC al 95%; 1.3 a 2.9; $p = 0.001$). Así también, las vacas entre 3 a 6 años y las mayores a 6 años tienen 1.7 y 2.3 veces mayor chance de presentación de HCS en comparación con las vacas menores a 3 años, respectivamente (IC al 95%; 1.2 a 2.6 y 1.2 a 4.1 respectivamente; $p < 0.05$). Así mismo, las vacas cuyas crías al nacimiento pesan más de 41.5 kg tienen 1.6 veces mayor chance de presentar HCS que las vacas cuyas crías al nacimiento tienen un peso menor a este (IC al 95%; 1.0 a 2.8; $p < 0.05$).

Cuadro 5. Resultados del análisis de regresión logística bivariado para el riesgo de presentación de HCS en vacas según la presentación de factores intrínsecos

Factores intrínsecos	Categoría	Regresión logística bivariado			
		OR (crudo)	IC 95%		Nivel de asociación
			Mínimo	Máximo	
Paridad	<i>Primípara</i>	1.000			
	<i>Múltipara</i>	1.951	1.32	2.87	0.001
Edad de parto	<i>< 3 años</i>	1.000			
	<i>3 a 6 años</i>	1.777	1.22	2.58	0.003
	<i>> 6 años</i>	2.230	1.21	4.08	0.009
Núm. De crías	<i>Único</i>	1.000			
	<i>Gemelar</i>	1.102	0.54	2.22	0.786
Sexo de la cría	<i>Hembra</i>	1.000			
	<i>Macho</i>	1.412	0.97	2.04	0.067
	<i>Gemelar</i>	1.297	0.63	2.67	0.480
Peso de cría	<i>≤ 41.5 kg PV</i>	1.000			
	<i>> 41.5 kg PV</i>	1.692	1.03	2.77	0.037
Raza	<i>Holstein</i>	1.000			
	<i>Otras</i>	1.678	0.86	3.25	0.126
Producción de calostro	<i>< 15 litros</i>	1.000			
	<i>≥ 15 litros</i>	1.258	0.87	1.81	0.220

OR: Odds Ratio, p: nivel de significancia (prueba de regresión logística bivariado)

Finalmente, en el cuadro 6 podemos observar los resultados de regresión logística multivariada inicial y final para el riesgo de presentación de HSC. Para esto, antes se descartaron los factores “sexo de cría”, “raza”, “presencia de metritis puerperal”, “edad al parto”, “eliminación de placenta” y “número de crías” mediante el método de selección de variables de eliminación hacia atrás en la regresión logística inicial (se descartaron variables no significativas con un nivel de significancia por encima del 0.20). Las variables que permanecieron en el modelo fueron: “paridad”, “asistencia al parto”, “estación de parto”, “establo” (aunque uno de los establos fue retirado de la regresión logística multivariada por tener datos insuficientes).

Según lo encontrado en el modelo final, las vacas multíparas tienen 2.2 veces mayor chance de presentar HCS que las vacas primíparas ($p < 0.01$), las vacas que presentaron partos asistidos tienen 2.7 veces mayor chance de presentar HCS que las vacas con partos normales ($p < 0.01$), las vacas que parieron en época de estrés calórico tienen 6.9 veces mayor chance de presentar HCS que las que parieron en época de confort térmico ($p < 0.001$) y que las vacas que tuvieron una producción mayor o igual a 15 litros de calostro tuvieron 1.7 veces mayor chance de presentar HCS que las vacas que tuvieron una producción menor a la mencionada ($p < 0.05$).

Cuadro 6. Resultados del análisis de regresión logística multivariado (inicial y final) con intervalo de confianza al 95% para el riesgo de presentación de HCS

Fact. extrínsecos e intrínsecos	Categoría	Regresión logística multivariado (inicial)				Regresión logística multivariado (final)			
		OR (ajustado)	IC 95%		Signif.	OR (ajustado)	IC 95%		Signif.
			Min	Max			Min	Max	
Paridad	<i>Primípara</i>	1				1			
	<i>Múltipara</i>	1.72	0.77	3.87	0.187	2.19	1.28	3.78	0.005
Edad de parto	<i>< 3 años</i>	1							
	<i>3 a 6 años</i>	1.35	0.64	2.84	0.436				
	<i>> 6 años</i>	1.71	0.67	4.37	0.262				
Asistencia al parto	<i>Sin</i>	1				1			
	<i>Asistencia Con asistencia</i>	2.64	1.36	5.121	0.004	2.72	1.43	5.17	0.002
Número de crías	<i>Único</i>	1							
	<i>Gemelar</i>	0.55	0.22	1.36	0.197				
Sexo de la cría	<i>Hembra</i>	1							
	<i>Macho</i>	1.03	0.65	1.65	0.876				
Estación de parto	<i>Confort térmico</i>	1				1			
	<i>Estrés calórico</i>	7.21	4.22	12.30	<0.001	6.92	4.11	11.65	<0.001
Establo	<i>1</i>	0.34	0.20	0.59	<0.001	0.35	0.21	0.59	<0.001
	<i>2</i>	0.19	0.10	0.35	<0.001	0.19	0.11	0.34	<0.001
	<i>3</i>	1				1			
Raza	<i>Holstein</i>	1							
	<i>Otras</i>	1.16	0.49	2.76	0.739				

	<i>Placenta</i>	1							
Eliminación	<i>eliminada</i>								
de Placenta	<i>Placenta</i>	1.38	0.74	2.56	0.311				
	<i>Retenida</i>								
Presencia	<i>Sin Metritis</i>	1							
de Metritis	<i>Con</i>	0.91	0.55	1.50	0.710				
Puerperal	<i>Metritis</i>								
Producción	<i>< 15 litros</i>	1							
de calostro	<i>≥ 15 litros</i>	1.61	0.96	2.71	0.072	1.70	1.02	2.80	0.040

OR: Odd Ratio, p: nivel de significancia (prueba de regresión logística multivariado)

V. Discusión

La HCS es una enfermedad peri puerperal ocasionada por la excesiva demanda de Ca que provoca un desequilibrio en la homeostasis que acciona la secreción de hormona paratiroidea (PTH), la cual requiere un tiempo prudencial para activar la resorción ósea, elevar la absorción renal de calcio y mejorar la absorción intestinal de calcio para regresar a una normocalcemia (Goff, 2010; Kumar y Thompson, 2011). Debido a que esta enfermedad es cíclica en la industria láctea, eso quiere que va a volver a ocurrir en cada nuevo parto, se buscaron factores que podrían limitar el accionar de la PTH, comprometer las reservas óseas de calcio, exigir altos requerimientos de calcio, acortar la preparación previa al parto o entorpecer los mecanismos homeostáticos para poder prevenir o limitar la aparición de la HCS; dichos factores se diferenciaron en dos grupos, factores extrínsecos, que involucran factores ambientales y de manejo, y factores intrínsecos, que engloba factores propios del animal.

El punto de corte para diferenciar vacas hipocalcémicas y vacas normocalcémicas fue 7.44 mg/dL, cuya base se fundamenta en un estudio previo de Arévalo (2017).

Los resultados obtenidos del análisis del modelo de regresión logística revelan que las vacas con partos asistidos tienen mayor chance de padecer HCS en comparación con las que no tuvieron ninguna complicación durante el parto (OR crudo = 1.72; 95% IC 0.77 – 3.87; OR ajustado = 2.19; 95% IC 1.28 – 3.78). Estos resultados indican que los partos asistidos tienen mayor riesgo para la presentación de HCS teniendo una explicación en que, los animales con partos

laboriosos, largos y extenuantes van a mostrarse decaídos e inapetentes (Krasniansky, 2014; Caixeta *et al.*, 2017), impidiendo así el correcto consumo de calcio (ya sean granos que aporten calcio o el mismo calcio suplementado) luego de la labor de parto, mermando las restantes reservas de calcio sérico del animal y elevando el número de vacas hipocalcémicas (Bhanugopan y Lievaart, 2014). No debe verse a la hipocalcemia como un evento inmediato llegado el parto sino como un acontecimiento que, de forma gradual y constante, va a reducir los niveles de calcio en sangre hasta un punto de quiebre que podría resolverse en cuestión de días u horas dependiendo de la accesibilidad que tenga la vaca al consumo de calcio en la dieta.

En cuando la estación de parición, las vacas que parieron en estación de estrés calórico tienen mayor chance de presentar HCS en comparación con las vacas que parieron en una estación de confort térmico (OR crudo = 7.21; 95% IC 4.22 – 12.30; OR ajustado = 6.92; 95% IC 4.11 – 11.65). Esta misma asociación fue estudiada por Khan *et al* (2015), quienes encontraron que existe un mayor chance de presentar HCS en épocas de verano, pero atribuyendo el impacto a posibles cambios nutricionales en el forraje suministrado, el cual pudo verse influenciado por la precipitación, temperatura y altitud local donde se llevó el estudio. Esto podría deberse a que en temporadas calurosas con alta precipitación los suelos concentran sales solubles (por ejemplo, el sodio), que serán absorbidas por las pasturas y, posteriormente, estas serán suministradas en los corrales del ganado. El ganado preparto será alimentado con forrajes con una diferencia aniónica-catiónica positiva que alcalinizará la sangre e impedirá la correcta acción de la PTH, dando como resultado un mayor número de vacas hipocalcémicas (Sánchez y Saborío-Montero, 2014; Santos *et al.*, 2019).

Otra posible explicación al aumento de riesgo de HCS en vacas en la época de verano podría deberse a la suplementación de bicarbonato sódico (NaHCO_3) o carbonato potásico (K_2CO_3) en la dieta post parto para elevar el consumo de material seco en el ganado (Schneider *et al.*, 1986; Canale y Stokes, 1988; Cara, 2013), esto fundamentado en el hecho de que el estrés calórico provoca inapetencia y, por ende, ocurre una pérdida de peso corporal, lo cual perjudicaría la producción láctea total (Hansen y Aréchiga, 1999; Moallem *et al.*, 2010; Soriani *et al.*, 2013).

El NaHCO_3 y K_2CO_3 son agente alcalinizante que se utilizan en el ganado lechero para contrarrestar la acidosis metabólica causada por la salivación excesiva en épocas de verano (Cara, 2013). El amortiguamiento del pH ruminal lleva a la alcalinidad metabólica, mejorando así el consumo de materia seca en estrés calórico. Sin embargo, el uso desmedido de NaHCO_3 y K_2CO_3 como agente alcalinizante para combatir la reducción de peso, alteraciones composiciones de la leche y otras afecciones propias del verano (laminitis por acidosis ruminal) en vacas preparto, podría estar induciendo un estado de alcalosis sanguínea que limitaría la eficacia de la PTH en la etapa preparto, elevando así el número de animales hipocalcémicos afectados.

También cabe resaltar que las vacas provenientes del establo 3 tienen mayor chance de presentar HCS en comparación con las otras vacas originarias de los establos 1 y 2 (OR crudo = 0.34; 95% IC 0.20 – 0.59; OR ajustado = 0.35; 95% IC 0.21 – 0.59; OR crudo = 0.19; 95% IC 0.10 – 0.35; OR ajustado = 0.19; 95% IC 0.11 – 0.34, respectivamente). El manejo de los establos puede tener mucha influencia en la presentación de numerosas enfermedades debido a que la administración de cada componente del ciclo productivo (estrategias preventivas, dietas, número de ordeños, estructura y distribución de los ambientes, entre otros) es diferente entre cada establo y, a su vez, este va a verse influenciado por la época y el lugar donde esté ubicado el establo (Chapinal *et al.*, 2012; Neves *et al.*, 2017)

Partiendo de la influencia que tiene el manejo de los diferentes establos en la presentación de enfermedades y sabiendo a su vez que la HCS es una enfermedad metabólica relacionada a la nutrición de las vacas preparto, es innegable que habrá un efecto sobre el número de casos.

Dentro del manejo de los establos se encuentra la diferencia de cargas iónicas de las dietas suministradas: positivas (cationes) y negativas (aniones). Las dietas aniónicas podrían presentar beneficios al ejercer un estado de acidosis metabólica que facilita el funcionamiento de la PTH al momento de regular la hipocalcemia preparto. Mientras que las dietas catiónicas presentan un efecto contrario (Moore *et al.*, 2000; Sánchez y Saborío-Montero, 2014).

Sabiendo el impacto que tiene la carga iónica en la dieta los animales preparto, es indispensable saber si este conocimiento se está aplicando correctamente en el Perú como método preventivo de la HCS. Una posible respuesta la encontraron Guzmán *et al* (2016), quienes reportaron el estado situacional de dichas dietas en vacas preparto ubicadas Lima y Trujillo (Perú) en establos de crianza intensiva estabulada, siendo los valores de DCAD +6.62 y +13.09 respectivamente, además de encontrar que el valor de pH urinario fue 7.7 en promedio con un rango de 6.0 – 8.48. Estos valores de DCAD positivas se atribuyeron a los insumos utilizados por sus altos niveles catiónicos como la chala de maíz, afrecho, maíz amarillo y torta de soya que se utilizaban de acuerdo con la estación del año, número de ordeños y número de lactaciones.

Otro tipo de manejo que se da dentro de los establos y puede influir en la presentación de HCS es la administración de suplementos dietéticos como el uso de sales aniónicas, que pueden ser una opción viable para reducir el efecto de las dietas catiónicas e inducir una acidosis preparto en vacas lecheras, siendo ampliamente utilizado con ciertas limitantes debido a su toxicidad, el precio y su efectividad. (Oetzel *et al.*, 1991; Van Dijk y Lourens, 2001; Goff *et al.*, 2004).

Las vacas multíparas tienen un mayor chance de presentar HCS comparado con las vacas primíparas (OR crudo = 1.72; 95% IC 0.77 – 3.87; OR ajustado = 2.19; 95% IC 1.28 – 3.78). Esto concuerda con lo observado por otros autores que atribuyen la poca incidencia en vacas primerizas a que sus huesos contienen más osteoclastos que permiten una mejor resorción ósea, una producción menor de calostro que limita el consumo de Ca sérico y tienen un mayor número de receptores intestinales que permiten una eficiente absorción de calcio (Davicco *et al.*, 1992; Andresen, 2001; Saborío-Montero *et al.*, 2017). Mientras que las vacas con un elevado número de partos han desgastado sus reservas óseas de calcio, el número de receptores diana de PTH han disminuido y tienen una mayor capacidad de producir leche y calostro que sus pares quienes recién inician su vida productiva (Salgado *et al.*, 2014). Esto concuerda con lo reportado en distintos estudios, los cuales reportaron una prevalencia de 25% en vacas primíparas frente a un 47% de multíparas (Reinhardt *et al.*, 2011) y 14.3% en primíparas frente a 85% en multíparas (Rodríguez *et al.*, 2017) pero, además de esto, también se ha observado de que las multíparas HCS tienen niveles de Ca sérico más bajos que las

vacas primíparas HCS, respaldando la ventaja que tienen las vacas de primer parto para afrontar mejor la hipocalcemia (Rodríguez, 2015; Rodríguez *et al.*, 2017).

Acerca de la producción de calostro como factor de riesgo, se asoció que las vacas con un volumen mayor o igual a 15 litros tienen mayor chance de padecer HCS que las vacas con un volumen de producción menor al mencionado (OR crudo = 1.61; 95% IC 0.96 – 2.71; OR ajustado = 1.70; 95% IC 1.02 – 2.80). Esto podría atribuirse a la excesiva demanda de calcio por parte del calostro en un periodo corto de tiempo que empezaría a producir inmediatamente el día del parto (Salgado *et al.*, 2014) y teniendo en cuenta de que el requerimiento de calcio para la producción de 10 litros de calostro es de aproximadamente 23 gramos (Horst *et al.*, 2005; Akalu, 2017), sería de mucha relevancia conocer la producción de calostro de cada vaca ya que una elevada producción de esta desembocaría a un mayor riesgo de presentar HCS. Además, esta relación entre la producción de calostro y la presentación de hipocalcemia tuvo un fuerte impacto tras conocerse los resultados de Goff *et al.* (2002) al realizar mastectomías a un grupo de vacas multíparas y comprobar que, luego de ocurrido el parto, en ninguna de las vacas ocurrió una declinación en los niveles de calcio sérico.

Esta lista de factores de riesgo para la presentación de HCS trata de perfilar animales que sean posibles candidatos que tengan una mayor probabilidad de presentar hipocalcemia subclínica, permitiendo así plantear alternativas de manejo o tratamiento preventivos, principalmente en forma de dietas debido al componente nutricional que acarrea dicha enfermedad.

El presente trabajo busca visibilizar la hipocalcemia subclínica como enfermedad silenciosa que merma la producción de pequeños y grandes establos a nivel nacional, principalmente en crianza intensiva por las exigencias productivas a la que se ven enfrentadas las vacas. En estos animales se podrá observar un detrimento en sus capacidades productivas, por lo cual algunos establos optarán por el sacrificio del animal y de esta forma ocurriría un acortamiento en la vida productiva de la vaca.

Cabe señalar que no existen suficientes datos a nivel nacional para conocer el estatus de dicha enfermedad en el país, por lo que se requieren una mayor atención a

centros de explotación intensivo a lo largo del Perú con énfasis en cuencas lecheras donde la salubridad, el tiempo de vida útil y volumen de producción de las vacas lecheras son esenciales para el progreso de dichos establos productivos.

VI. Conclusión

1. Las vacas multíparas tienen mayor riesgo de presentar HCS comparado con las vacas primíparas (OR ajustado 2.19; IC 95%, 1,28 – 3.78)
2. Las vacas cuyos partos son asistidos tienen mayor riesgo de presentar HCS comparado con las vacas cuyos partos no tienen complicaciones (OR ajustado 2.72; IC 95%, 1.43 – 5.17)
3. Las vacas que paren en época de estrés calórico tienen mayor riesgo de presentar HCS comparado con las vacas que paren en épocas de confort térmico (OR ajustado 6.92; IC 95%,4.11 – 11.65)
4. Las vacas que tienen una producción mayor o igual a 15 litros de calostro tienen mayor riesgo de presentar HCS comparado con las vacas que tienen una producción menor a la mencionada (OR ajustado 1.70; IC 95%, 1.02 – 2.80)
5. El factor establo es influyente en la presentación de hipocalcemia subclínica.

VII. Literatura citada

1. Abel M, Hoenderop J, Van der Kemp A, Van Leuwen J, Bindels R. 2003. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels in small intestine as studied by quantitative mRNA detection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 285: G78–G85. DOI: 10.1152/ajpgi.00036.2003
2. Ahmadzadeh A, McGire M, Dalton J. 2010. Interaction between clinical mastitis, other diseases and reproductive performance in dairy cows. *WCDS Advances in dairy technology Vol. 22*: 83-95. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2008.04.024
3. Aiello S, Mays A, Amstuz H, Anderson D. 2015. Paresia puerperal. En: Cynthia M, Scott eds. *Manual Veterinario Merck*. 19^a ed. USA: Merck & Co. P 8006-8008.
4. Akalu A. 2017. Status of parturient paresis (hypocalcaemia and milk fever) on dairy farm in Addis Ababa City, Ethiopia. *European journal of applied sciences* 9 (1). DOI: 10.5829/idosi.ejas.2017.06.10
5. Andresen H. 2001. Vacas secas y en transición. *Rev Inv Vet Perú*; 12(2): 36-48.
6. Arévalo I. 2017. Niveles de calcio sérico y su relación con la presentación de endometritis post puerperal diagnosticada con Metrichcek® en vacas lecheras de crianza intensiva de Lima. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 80 p.
7. Bar D y Ezra E. 2005. Effects of common calving diseases on milk yield in high production dairy cows. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 60:106-111.
8. Ben-awadh A, Delgado-Calle J, Tu X, Kuhlenschmidt K, Allen M, Plotkin L, Bellido T. 2014. Parathyroid hormone receptor signaling induces boneresorption in the adult skeleton by directly regulating the RANKL gene in osteocytes. *Endocrinology*. 155(8):2797–2809. DOI: 10.1210/en.2014-104

9. Berman A. 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 2005. 83:1377–1384. DOI: 10.2527/2005.8361377x
10. Besarab A, Swanson J. 1982. Differences in effects of amino-terminal and intact parathyroid hormone on calcium, phosphate, and cAMP excretion by the isolated perfused rat kidney. *Renal Physiol., Basel.* 5: 261-271. DOI: 10.1159/000172866
11. Beñaldo F. 2012. Enfermedades del periodo de transición postparto y sus efectos en la producción de leche y la fertilidad en un sistema productivo de leche. Tesis de médico veterinario. Santiago. Universidad de Chile. 67p.
12. Bezerra L, De Oliveira C, De Araujo MJ, Edvan R, De Oliveira W, Pereira F. 2014. Major metabolic diseases affecting cows in transition period. *International Journal of Biology*; Vol. 6, No. 3. DOI: 10.5539/ijb.v6n3p85
13. Bhanugopan M, Lievaart J. 2014. Survey on the occurrence of milk fever in dairy cows and the current preventive strategies adopted by farmers in New South Wales, Australia. *Australian Veterinary Journal* Volume 92, No 6. DOI: 10.1111/avj.12183
14. Blanc C, Van der Lis M, Aly S, Rossow H, Siva del Río N. 2014. Blood calcium dynamics after prophylactic treatment of subclinical hypocalcemia with oral or intravenous calcium. *J. Dairy Sci.* 97 :6901–6906. DOI: 10.3168/jds.2014-7927
15. Bronner F. 2003. Mechanisms of intestinal calcium absorption. *Journal of Cellular Biochemistry* 88:387–393. DOI: 10.1002/jcb.10330
16. Bueno W. 2013. Índices productivos y reproductivos en vacunos Brown Swinns, Jersey y Holstein en altura – Cooperativa Atahualpa Jerusalén, Cajamarca 1999 – 2013. Tesis para optar el título de magister en producción animal. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. 182 p.
17. Bushinsky D, Riera G, Favus M, Coe F. 1985. Evidence that blood ionized calcium can regulate serum 1,25(OH)₂D₃ independently of parathyroid hormone and phosphorus in the rat. *J Clin Invest.* 76(4):1599-1604. DOI: 10.1172/JCI112143.
18. Bzuneh E, Alemneh T, Getabalew M. 2020. Milk fever (parturient paresis) and its economic impact in dairy cattle production. *J Vet Med Res* 7(3): 1191.
19. Caixeta L, Ospina P, Capel M, Nydam D. 2017. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 94: 1-7. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.01.039.

20. Canale C, Stokes M. 1988. Sodium bicarbonate for early lactation cows fed corn silage or hay crop silage-based diet. Vol 71, 2^a ed. 373 – 380 p. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79566-1
21. Capper J, Cady R. 2012. A comparison of the environmental impact of jersey compared with Holstein milk for cheese production. J. Dairy Sci. 95 :165–176. DOI: 10.3168/jds.2011-4360
22. Cara K. 2013. Effects of dietary potassium carbonate and fat concentration in high distiller grain diets fed to dairy cow. Tesis de maestría en ciencia. Ohio: The Ohio State University. 75 p.
23. Chapinal N, Carson M, Duffield T, Capel M, Godden S, Overton M, Santos J, LeBlanc S. 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. Journal of Dairy Science 94(10): 4897-4903. DOI: 10.3168/jds.2010-4075
24. Chapinal N, LeBlanc S, Carson M, Leslie K, Godden S, Capel M, Santos J, Overton M, Duffield T. 2012. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. J. Dairy Sci. 95 :5676–5682. DOI: 10.3168/jds.2011-5132
25. Chiwome B, Kandiwa E, Mushonga B, Sajeni S, Habarugira G. 2017. A study of the incidence of milk fever in jersey and Holstein cows at a dairy farm in Beatrice, Zimbabwe. Journal of the South African Veterinary Association 88(0), a1457. DOI: 10.4102/jsava.v88i0.1457
26. Clarke M, Russell P, Findaly D, Sastra S, Anderson P, Skinner J, Atkins G, Zajac J, Davey A. 2015. A role for the calcitonin receptor to limit bone loss during lactation in female mice by inhibiting osteocytic osteolysis. Endocrinology 2015 Sep;156(9):3203-14. DOI: 10.1210/en.2015-1345
27. Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati, Kumar R. 2106. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. Veterinary World, EISSN: 2231-0916. DOI: 10.14202/vetworld.2016.260-268
28. Davicco M, Rémond B, Jabet S, Barlet J. 1992. Plasma osteocalcin concentrations in cows around parturition. The influence of a regular versus a very short dry period. Reprod Nutr Dev. 1992;32(4):313-9. DOI: 10.1051/rnd:19920401.
29. DeGaris P, Lean I. 2008. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. The Veterinary Journal 176: 58–69. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.12.029

30. Erkihun T y Lingerih B. 2015. An Overview on milk fever in dairy cattle in and around west Shoa. *World Journal of Biology and Medical Sciences* Vol 2, No. 4, 115-125.
31. Garrett J, Tamir H, Kifor O, Simin R, Rogers K, Mithal A, Gagel R, Brown E. 1995. Calcitonin-secreting cells of the thyroid express an extracellular calcium receptor gene. *Endocrinology* 1995 Nov;136(11):5202-11. DOI: 10.1210/endo.136.11.7588259
32. Goff J, Reinhardt A, Horst R. 1995. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 1995 Nov;78(11):2388-94. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76867-9.
33. Goff J, Kimura K, Horst R. 2002. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and β -carotene status at parturition. *Journal of Dairy Science* 85(6):1427-36. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74210-0
34. Goff J. 2004. Macromineral disorders of the transition cow. *Veterinary Clinic of North America*, 20: 471-494. DOI: 10.1016/j.cvfa.2004.06.003
35. Goff J, Ruiz R, Horst R. 2004. Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J Dairy Sci.* 87:1245–1255. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73275-0
36. Goff J. 2010. En Smith B. *Medicina Interna de grandes animales*. 4 ed. El Sevier p 1369-1373. 357 – 361.
37. Guzmán A, Montoya B, Gómez C. 2016 Determinación del balance catión aniión dietario en vacas de parto en establos lecheros de Lima y Trujillo, Perú, y su relación con el pH urinario. *Rev Inv Vet Perú* 2016; 27(4): 698-705. DOI: 10.15381/rivep. rivep.v27i4.12559
38. Hansen P, Aréchiga C. 1999. strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *American Society of Animal Science and American Dairy Science Association. J Anim Sci.* 1999;77 Suppl 2:36-50. DOI: 10.2527/1997.77suppl_236x
39. Hansen S, Nørgaard P, Pedersen C, Jørgensen R, Mellau LSB, Enemark J. 2003. The effect of subclinical hypocalcaemia induced by Na₂EDTA on the feed intake and chewing activity of dairy cows. *Veterinary Research Communications.* 27(3): 193-205. DOI: 10.1023/A:1023340506782
40. Harris D. 1981. Factors predisposing to parturients paresis. *Australian Veterinary Journal*, Vol. 57. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1981.tb00522.x

41. Haubi C, Moreno A, Diaz de León M, Briones C, Meneses J, Orenday M, Torres J, Briones J. 2006. Teoría ácido-básico de Stewart, un nuevo paradigma en medicina crítica. *Rev Mex Anest*, 29 (4): 240-244
42. Hernández-Castellano L, Hernandez L, Bruckmaier R. 2019. Review: Endocrine pathways to regulate calcium homeostasis around parturition and the prevention of hypocalcemia in periparturient dairy cows. *The Animal Consortium* 2019. *Animal* (2020),14:2, pp 330–338. DOI: 10.1017/S1751731119001605
43. Heuer C, Shukken H, Dobbelaar P.1999. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J Dairy Sci.* 1999 Feb;82(2):295-304. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75236-7.
44. Hoenderop J, Van der Kemp A, Hartog A, Van de Graaf S, Van Os C, Willems H, Bindels J. 1999. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *The journal of biological chemistry.* Vol. 274, No 13: 8375 – 8378. DOI: 10.1074/jbc.274.13.8375
45. Hoenderop J, Nilius B, Bindels R. 2005. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev* 85: 373–422. DOI: 10.1152/physrev.00003.2004
46. Hoff A, Catala-Lehnen P, Thomas P, Priemel M, Rueger J, Nasonkin I, Bradley A, Hughes M, Ordonez N, Cote G, Amling M, Gagel R. 2002. Increased bone mass is an unexpected phenotype associated with deletion of the calcitonin gene. *J Clin Invest.* 110(12): 1849-1857. DOI: 10.1172/JCI14218.
47. Hongo H, Hasegawa T, Saito M, Tsuboi K, Yamamoto T, Sasaki M, Abe M, De Freitas P, Yurimoto H, Udagawa N, Li M, Amizuka N. 2020. Osteocytic Osteolysis in PTH-treated Wild-type and Rankl^{-/-} Mice Examined by Transmission Electron Microscopy, Atomic Force Microscopy, and Isotope Microscopy. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 1 – 18. DOI: 10.1369/0022155420961375
48. Horst R, Goff J, Reinhardt T. 1990. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology*, Vol. 126 (Supp. 2). p 153 – 1057. DOI: 10.1210/endo-126-2-1053
49. Horst R, Goff J, Reinhardt T, Buxton D. 1996. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J Dairy Sci* 80:1269–1280. DOI: 10.1210/endo-126-2-1053
50. Horst R, Goff J, Reinhardt A. 2005. Adapting to the transition between gestation and lactation: differences between rat, human and dairy cow. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, Vol. 10, No. 2. DOI: 10.1007/s10911-005-5397-x

51. Hutjens M. 2003. An alternative to metabolic disorders; looking at hypocalcemia. dairy decision column. Illinois: Universidad de Illinois.
52. [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012. IV Censo nacional Agropecuario. [Internet], [5 de enero de 2022]. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/#>
53. Jawor P, Huzzey J, LeBlanc S, Keyserlingk M. 2012. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in holstein cows. *J. Dairy Sci.* 95 :1240–1248. DOI: 10.3168/jds.2011-4586
54. Kadzere C, Murphy M, Silanikove N, Maltz E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 77 (2002) 59–91. DOI: 10.1016/S0301-6226(01)00330-X
55. Krasniansky K. 2014. Efecto de la distocia sobre el rendimiento productivo de vacas lecheras de la zona central de Chile. Memoria para optar al título profesional de médico veterinario. Santiago. Universidad de Chile. 44 p.
56. Kerwin A, Ryan C, Leno B, Jakobsen M, Theilgaard P, Barbano D, Overton T. 2019. Effects of feeding synthetic zeolite A during the prepartum period on serum mineral concentration, oxidant status, and performance of multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science.* 102(6): 1-17. DOI: 10.3168/jds.2019-16272
57. Khan A, Mushtag M, Khan A, Chaudhry M, Hussain A. 2015. Descriptive epidemiology and seasonal variation in prevalence of milk fever in KPK (Pakistan). *Global Veterinaria* 14 (4): 472-477. DOI: 10.5829/idosi.gv.2015.14.04.93172
58. Kovacs C. 2017. Commentary: The skeleton is a storehouse of mineral that is plundered during lactation and (fully?) replenished afterwards. *Journal of Bone and Mineral Research.* [Internet], [21 noviembre 2020]. DOI: 10.1002/jbmr.3090
59. Kumar R, Thompson J. 2011. the regulation of parathyroid hormone secretion and synthesis. *J Am Soc Nephrol.* 22: 216–224. DOI: 10.1681/ASN.2010020186
60. Lean I, DeGaris P, McNeil D, Block E. 2006. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J. Dairy Sci.* 89:669–684. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72130-0
61. Liesegang A, Eicher R, Sassi M, Risteli J, Kraenzlin M, Riond JL, Wanner M. 1999. Biochemical markers of bone formation and resorption around parturition and during lactation in dairy cows with high and low standard milk yields. *J Dairy Sci* 83:1773–1781. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75048-X

62. Lopera C, Zimpler R, Vieira-Neto A, Lopes F, Ortiz W, Poindexter M, Faria B, Gambarini M, Block E, Nelson C, Santos J. 2018. Effects of level of dietary cation-anion difference and duration of prepartum feeding on performance and metabolism of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:1–23. DOI: 10.3168/jds.2018-14580
63. Ma Y, Cain R, Halladay D, Yang X, Zeng Q, Miles R, Chandrasekhar S, Martin T, Onyia J. 2001. Catabolic effects of continuous human PTH (1–38) *in vivo* is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology* 142(9):4047–4054.
64. Martinez N, Risco C, Lima F, Bisinotto R, Greco L, Ribeiro E, Maunsell F, Galvao K, Santos J. 2012. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.* 95 :7158–7172. DOI: 10.3168/jds.2012-5812
65. Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Daetz R, Lopera C, Risco CA, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JE. 2016. Effects of oral calcium supplementation on mineral and acid-base status, energy metabolites, and health of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99: 8397–8416. DOI: 10.3168/jds.2015-10527
66. Martín-Tereso J, Martens H, Deiner C, Vann Laar H, Hartog L, Verstegen M. 2016. Pre-calving feeding of rumen-protected rice bran to multiparous dairy cows improves recovery of calcemia after calving. *Journal of Dairy Research* (2016) 83 281–288. DOI: 10.1017/S002202991600039X
67. Melendez P, Donovan A, Risco C. 2002. Metabolic responses of transition Holstein cows fed anionic salts and supplemented at calving with calcium and energy. *J. Dairy Sci.* 85:1085–1092. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74169-6
68. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2017. Estudio de la ganadería lechera en el Perú: Análisis de su estructura, dinámica y propuesta de desarrollo. Perú: MINAGRI. 84 p.
69. Moallem U, Altmark G, Lehrer H, Arieli A. 2010. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. *J. Dairy Sci.* 93 :3192–3202. DOI: 10.3168/jds.2009-2979
70. Moore S, VandeHaar M, Sharma B, Pilbeam T, Beede D, Bucholtz H, Liesman J, Horst R, Goff J. 2000. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. *J Dairy Sci* 83:2095–2104. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75091-0
71. Mulligan F, O’Grady L, Rice D, Doherty M. 2006a. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal*

- Reproduction Science 96 (2006) 331–353. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.011
72. Mulligan F, O’Grady L, Rice D, Doherty M. 2006b. Production diseases of the transition cow: milk fever and subclinical hypocalcemia. *Irish Veterinary Journal*, Vol: 59 (12).
 73. Mulligan F, Doherty M. 2008. Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1): 3-9. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.12.018
 74. Nango N, Kubota S, Hasegawa T, Yashiro W, Momose A, Matsuo K. 2016. Osteocyte-directed bone demineralization along canaliculi. *Bone*. 84:279-288. DOI: 10.1016/j.bone.2015.12.006
 75. Neves R, Leno B, Stokol T, Overton T, McArt J. 2017. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:1–9. DOI: 10.3168/jds.2016-11970
 76. Neves R, Leno B, Bach K, McArt J. 2018a. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. *J. Dairy Sci.* 101: 9321–9331. DOI: 10.3168/jds.2018-14587
 77. Neves R, Leno B, Curler M, Thomas M, Overton T, McArt A. 2018b. association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 101:1–9. DOI: 10.3168/jds.2017-13313
 78. Nir O. 2003. What are production diseases, and how do we manage them?. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 98: 21-32. DOI: 10.1210/endo.142.9.8356
 79. [OCDE – FAO] Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico - Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2021. OECD-FAO agricultural outlook 2021-2030. Paris: OCDE – FAO. Serie de Informe Técnicos. 337 p. DOI: 10.1787/19428846-en
 80. Oetzel G, Olson J, Curtis C, Fettman M. 1988. Ammonium Chloride and Ammonium Sulfate for Prevention of Parturient Paresis in Dairy Cows. *Dairy Sci* 71:3302-3309. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79935-X
 81. Oetzel G, Fettman M, Hamar D, Olson J. 1991. Screening of anionic salts for palatability, effects on acid-base status, and urinary calcium excretion in dairy cows. *J Dairy Sci* 74: 965-971. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78245-3
 82. Oehlschlaeger V, Wilkens M, Schroeder B, Daenicke S, Breves G. 2014. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on localisation and extent of gastrointestinal calcium

- absorption in dairy cattle. *Animal Production Science*, 2014, 54, 1394–1398. DOI: 10.1071/AN14344
83. Ostergaard S, Sorensen J, Houe H. 2003. A stochastic model simulating milk fever in a dairy herd. *Preventive Veterinary Medicine* 58 (2003) 125–143. DOI: 10.1016/S0167-5877(03)00049-7
 84. Poindexter M, Kweh R, Zimpel R, Zuniga J, Lopera C, Zenobi M, Jiang Y, Engstrom M, Celi P, Santos JE, Nelson CD. 2020. Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D₃ increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103. DOI: 10.3168/jds.2019-16999
 85. Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchcliff K. 2000. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 9^a ed. Filadelfia: Saunders Ltd. 1877 p.
 86. Reinhardt T, Horst R, Goff J. 1988. Calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis in ruminants. *veterinary clinics of North America: Food animal practic.* Vol. 4, Número 2. 331-350 p.
 87. Reinhardt T, Lippolis J, McCluskey B, Goff J, Horst R. 2011. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188: 122–124. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.03.025
 88. Rodríguez E. 2015. Study of cow subclinical hypocalcemia and development of new tools for its diagnostic and prevention. *Memoria para optar al título de doctor en Biotecnología*. España: Universidad Autónoma de Madrid. 121 p.
 89. Rodríguez E, Arís A, Bach A. 2017. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:1–8. DOI: 10.3168/jds.2016-12210
 90. Rodrigues R, Cooke R, Ferreira H, Florido R, Camargo V, De Godoy H, Bruni G, Vasconcelos J. 2020. Impacts of subclinical hypocalcemia on physiological, metabolic, and productive responses of Holstein × Gir dairy cows. *Transl. Anim. Sci.* 4: 1060–1069. DOI: 10.1093/tas/txaa016
 91. Roche J, Berry D. 2006. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. *J. Dairy Sci.* 89:2775–2783. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72354-2
 92. Roche J, Dalley D, O'Mara F. 2007. Effect of a metabolically created systemic acidosis on calcium homeostasis and the diurnal variation in urine pH in the non-lactating pregnant dairy cow. *Journal of Dairy Research* (2007) 74 34–39. DOI: 10.1017/S0022029906002123

93. Saborío-Montero A, Vargas-Leitón B, Romero-Zúñiga J, Sánchez J. 2017. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing dairy. *J. Dairy Sci.* 100:9715–9722. DOI: 10.3168/jds.2017-13065
94. Saed H, Ibrahim H, El-khodery S, Youssef M. 2020. Prevalence and potential risk factors of hypocalcemia in dairy cows during transition period at Northern Egypt. *Mansoura Veterinary Medical Journal* 21:1 (2020) 21-30. DOI: 10.35943/mvmj.2020.21.104
95. Salgado E, Bouda J, Villa A, Romano J, Gutiérrez A, Velásquez F. 2014. Metabolites of vitamin D and minerals in blood and colostrum of primiparous and multiparous dairy cows postpartum. *Czech J. Anim. Sci.*, 59, 2014 (1): 11–18. DOI: 10.17221/7189-CJAS
96. Sánchez J, Saborío-Montero A. 2014. Hipocalcemia e hipomagnesemia en un hato de vacas Holstein, Jersey y Guernsey en pastoreo. *Agronomía Costarricense* 38(2): 55-65. ISSN:0377-9424 / 2014
97. Santos JEP, Lean IJ, Golder H, Block E. 2019. Meta-analysis of the effects of prepartum dietary cation-anion difference on performance and health of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102:1–21. DOI: 10.3168/jds.2018-14628
98. Schneider P, Beede D, Wilcox C. 1986. Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress. *J Dairy Sci.* 1986 Jan;69(1):99-110. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(86)80374-5
99. Seifi H, LeBlanc S, Leslie K, Duffield T. 2011. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 188 (2011) 216–220. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.04.007
100. Soriani N, Panella G, Calamari L. 2013. Rumination time during the summer season and its relationships with metabolic conditions and milk production. *J. Dairy Sci.* 96 :1–13. DOI: 10.3168/jds.2013-6620
101. Tazawa K, Hoshi K, Kawamoto S, Tanka M, Ejiri S, Ozawa H. Osteocytic osteolysis observed in rats to which parathyroid hormone was continuously administered. *J Bone Miner Metab* 22:524–529. DOI: 10.1007/s00774-004-0519-x
102. Thilsing-Hansen T, Jorgensen RJ, Ostergaard S. 2002. Milk Fever Control Principles: A Review. 43: 1-19. DOI: 10.1186/1751-0147-43-1
103. Thilsing T, Jorfensen RJ, Poulsen HD. 2006. In vitro binding capacity of zeolite a to calcium, phosphorus and magnesium in rumen fluid as influenced by changes in pH. *J. Vet. Med. A* 53, 57–64. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2006.00798.x

104. Thirunavukkarasu M, Kathiravan G, Kalaikannan A, Jebarani W. 2010. Quantifying economic losses due to milk fever in dairy farms. *Agricultural Economics Research Review* 23(347-2016-17036): 77-82. DOI: 10.22004/ag.econ.92097
105. Valdecabres A, Pires J, Silva del Río N. 2019. Cow-level factors associated with subclinical hypocalcemia at calving in multiparous Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 102:8367–8375. DOI: 10.3168/jds.2018-16180
106. Van Dijk C, Lourens D. 2001. Effects of anionic salts in a pre-partum dairy ration on calcium metabolism. *Tydskr.S.Afr.vet.Ver.* (2001) 72(2): 76-80. DOI: 10.4102/jsava.v72i2.621
107. Venjakob P, Pieper L, Heuwieser W, Borchardt S. 2018. Association of postpartum hypocalcemia with early-lactation milk yield, reproductive performance, and culling in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 101:1–10. DOI: 10.3168/jds.2017-14202
108. Vieira-Neto A, Lima I, Lopes F, Lopera C, Zimpel R, Sinedino L, Jeong K, Galvao K, Thatcher W, Nelson C, Santos J. 2017. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:1–19. DOI: 10.3168/jds.2016-12506
109. Vieira-Neto A, Leao I, Prim J, Silva A, Nehme Marinho M, Zimpel R, Etheve S, Nelson C, Santos J. 2021. Effect of duration of exposure to diets differing in dietary cation-anion difference on Ca metabolism after a parathyroid hormone challenge in dairy cows. *J Dairy Sci* 104(1):1018-1038. DOI: 10.3168/jds.2020-19127
110. Wein M. 2017. Parathyroid hormone signaling in osteocytes. *JBMR Plus*, Vol. 2, No. 1: 22 – 30. DOI: 10.1002/jbm4.10021
111. Wilkens M, Oberheide I, Schröder B, Azem E, Steinberg W, Breves G. 2012. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95: 151–164. DOI:10.3168/jds.2011-4342
112. Wilkens M, Liesegang A, Richter J, Fraser D, Breves G, Schroder B. 2014. Differences in peripartal plasma parameters related to calcium homeostasis of dairy sheep and goats in comparison with cows. *Journal of Dairy Research* 81: 325–332. DOI: 10.1017/S002202991400020X
113. Wilkens M, Nelson C, Hernandez L, McArt J. 2020. Symposium review: Transition cow calcium homeostasis - Health effects of hypocalcemia and strategies for prevention. *J. Dairy Sci.* 103. DOI: 10.3168/jds.2019-17268
114. Wysolmerski J. 2012. Osteocytic osteolysis: time for a second look?. *BoneKEY Reports* 1: 229 DOI: 10.1038/bonekey.2012.229